

**UNTERSUCHUNGEN ZUM LAGERUNGSVERHALTEN
VON LYMPHGEFÄßEN**

ULRICH GOLDMANN

1987

Disbui. München





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554827_0003

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
der Universität München, Klinikum Großhadern
Vorstand : Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel

**Untersuchungen zum Lagerungsverhalten
von Lymphgefäßen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ulrich Goldmann
aus
Köln
1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr. R.G. Baumeister

Mitberichterstatter: 1. Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel
2. Prof.Dr. G. Heberer

Dekan: Prof.Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 15.10.1987

I.	Einleitung und Programm	1
1.1.	Thema und Zweck	2
1.2.	Verfahren und Organisation	3
1.3.	Zeitliche Grenze	4
1.4.	Räumliche Begrenzung	5
1.5.	Methodische	6
1.6.	Ergebnisse	7
II.	MEINEN ELTERN	8
2.1.	Einleitung	9
2.2.	Einleitung	10
2.3.	Einleitung	11
2.4.	Einleitung	12
2.5.	Einleitung	13
2.6.	Einleitung	14
2.7.	Einleitung	15
2.8.	Einleitung	16
2.9.	Einleitung	17
2.10.	Einleitung	18
2.11.	Einleitung	19
2.12.	Einleitung	20
2.13.	Einleitung	21
2.14.	Einleitung	22
2.15.	Einleitung	23
2.16.	Einleitung	24
2.17.	Einleitung	25
2.18.	Einleitung	26
2.19.	Einleitung	27
2.20.	Einleitung	28
2.21.	Einleitung	29
2.22.	Einleitung	30
2.23.	Einleitung	31
2.24.	Einleitung	32
2.25.	Einleitung	33
2.26.	Einleitung	34
2.27.	Einleitung	35
2.28.	Einleitung	36
2.29.	Einleitung	37
2.30.	Einleitung	38
2.31.	Einleitung	39
2.32.	Einleitung	40
2.33.	Einleitung	41
2.34.	Einleitung	42
2.35.	Einleitung	43
2.36.	Einleitung	44
2.37.	Einleitung	45
2.38.	Einleitung	46
2.39.	Einleitung	47
2.40.	Einleitung	48
2.41.	Einleitung	49
2.42.	Einleitung	50
2.43.	Einleitung	51
2.44.	Einleitung	52
2.45.	Einleitung	53
2.46.	Einleitung	54
2.47.	Einleitung	55
2.48.	Einleitung	56
2.49.	Einleitung	57
2.50.	Einleitung	58
2.51.	Einleitung	59
2.52.	Einleitung	60
2.53.	Einleitung	61
2.54.	Einleitung	62
2.55.	Einleitung	63
2.56.	Einleitung	64
2.57.	Einleitung	65
2.58.	Einleitung	66
2.59.	Einleitung	67
2.60.	Einleitung	68
2.61.	Einleitung	69
2.62.	Einleitung	70
2.63.	Einleitung	71
2.64.	Einleitung	72
2.65.	Einleitung	73
2.66.	Einleitung	74
2.67.	Einleitung	75
2.68.	Einleitung	76
2.69.	Einleitung	77
2.70.	Einleitung	78
2.71.	Einleitung	79
2.72.	Einleitung	80
2.73.	Einleitung	81
2.74.	Einleitung	82
2.75.	Einleitung	83
2.76.	Einleitung	84
2.77.	Einleitung	85
2.78.	Einleitung	86
2.79.	Einleitung	87
2.80.	Einleitung	88
2.81.	Einleitung	89
2.82.	Einleitung	90
2.83.	Einleitung	91
2.84.	Einleitung	92
2.85.	Einleitung	93
2.86.	Einleitung	94
2.87.	Einleitung	95
2.88.	Einleitung	96
2.89.	Einleitung	97
2.90.	Einleitung	98
2.91.	Einleitung	99
2.92.	Einleitung	100
2.93.	Einleitung	101
2.94.	Einleitung	102
2.95.	Einleitung	103
2.96.	Einleitung	104
2.97.	Einleitung	105
2.98.	Einleitung	106
2.99.	Einleitung	107
3.	Schluss	108

UNTERSUCHUNGEN ZUM LAGERUNGSVERHALTEN VON LYMPHGEFÄSSEN

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung und Problemstellung	1
2.	Methodik und Material	5
2.1.	Versuchstiere und Versuchsanordnung	5
2.1.1.	Long Evans Ratten	5
2.1.2.	Isogene Lymphgefäßtransplantation	5
2.1.3.	Lagerungsmodell	6
2.1.4.	Lagerungs-Transplantationsmodell	8
2.2.	Operationsmodell an der Ratte	11
2.3.	Mikrochirurgische Ausstattung	17
2.3.1.	Optische Vergrößerung	17
2.3.2.	Instrumentarium	17
2.3.3.	Nahtmaterial	18
2.4.	Nahttechnik	19
2.5.	Untersuchungsmethoden	23
2.5.1.	Intraoperative Inspektion	23
2.5.2.	Durchgängigkeitsprüfung mittels Farbstoffinjektion	23
2.5.3.	Durchgängigkeitsprüfung mittels Lymphographie	24
2.5.4.	Elektronenmikroskopische Untersuchung	25
3.	Ergebnisse	27
3.1.	Isogene Lymphgefäßtransplantation	27
3.1.1.	Intraoperative Inspektion	27
3.1.2.	Durchgängigkeitsprüfung mittels Farbstoffinjektion	29
3.1.3.	Durchgängigkeitsprüfung mittels Lymphographie	31
3.1.4.	Elektronenmikroskopische Untersuchung	33
3.2.	Lagerung von Ductus thoracicus-Segmenten	37
3.2.1.	Kurzfristige Lagerung	37
3.2.2.	Mittelfristige Lagerung	47
3.2.3.	Langfristige Lagerung	49

3.3.	Lagerung und Transplantation von isogenen Ductus-thoracicus-Segmenten	52
3.3.1.	Transplantation nach kurzfristiger Lagerung	52
3.3.1.1.	Inspektion	53
3.3.1.2.	Farbstoffinjektion	54
3.3.1.3.	Lymphographie	56
3.3.1.4.	Elektronenmikroskopie	57
3.3.2.	Transplantation nach mittelfristiger Lagerung	65
3.3.2.1.	Inspektion	66
3.3.2.2.	Farbstoffinjektion	66
3.3.2.3.	Lymphographie	67
3.3.2.4.	Elektronenmikroskopie	68
3.3.3.	Transplantation nach langfristiger Lagerung	78
3.3.3.1.	Inspektion	79
3.3.3.2.	Farbstoffinjektion	79
3.3.3.3.	Lymphographie	79
3.3.3.4.	Elektronenmikroskopie	80
3.3.3.5.	Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse des Lagerungs-Transplantationsmodells	82
4.	Diskussion	84
4.1.	Die Mikrochirurgie der Lymphgefäße	84
4.2.	Die isogene Ductus thoracicus-Transplantation	89
4.3.	Die Lagerung von Ductus thoracicus-Transplantaten	94
4.3.1.	Versuchsansatz	95
4.3.2.	Allgemeine Kriterien einer Transplantatlagerung	96
4.3.3.	Die Lagerung von Lymphgefäßtransplantaten	101
5.	Zusammenfassung	110
6.	Literaturverzeichnis	112

Abkürzungsverzeichnis

D. thoracicus	Ductus thoracicus
REM	Rasterelektronenmikroskopie
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie (= Ultradünnschnitt)
KA	Kapillare
KF	Kollagenfaser
ER	Erythrozyt
EN	Endothel
FI	Fibrin
LU	Lumen
LY	Lymphozyt
MU	Muskelzelle
Vergr.	Vergrößerung

Der Maßbalken auf den elektronenmikroskopischen Bildern entspricht der Einheit μ .

Die regionale Blockade des Lymphabstromes führt sekundär zur Entstehung eines lymphostatischen Ödems. Die lymphpflichtige Last kann hierbei aufgrund einer mechanischen Insuffizienz der Lymphgefäße nicht aus dem interstitiellen Raum zurück in das Venensystem geführt werden. Das Lymphödem entsteht, neben der selteneren primären Erscheinungsform, sowohl posttraumatisch als auch iatrogen. In Europa ist die häufigste Ursache des iatrogenen Lymphödems die Mastektomie mit Achseldrüsenausräumung und Nachbestrahlung. Nach modifiziert radikaler Mastektomie tritt bei bis zu 35% der Patientinnen ein Armödem auf (7). Die vorgeschlagenen Behandlungsmethoden der Ödeme umfassen einen weitgesteckten Rahmen an Therapien. Zu den konservativen Maßnahmen gehört die physikalische Methode der entstauenden Massage und der Kompression betroffener Gewebsbezirke mit elastischen Stützverbänden bzw. Strümpfen nach Maß (25,43). Medikamentöse Behandlungsversuche bestanden in der Verabreichung von Diuretika zum Entzug von Wasser (41), aber auch in Versuchen mit Hyaluronidase-Iontophorese zur Regression der Lymphgefäßsklerosierung (64) oder Benzopyronen zur Makrophagenaktivierung (21). Chirurgische Behandlungsmethoden versuchten mittels Resektion des ödematösen Gewebes der Extremität die lymphpflichtige Last zu reduzieren (22,92). Daneben stand als ableitendes Verfahren die Anwendung des gestielt oder frei transplantierten Omentums (35,50,95) sowie Lappenplastiken (48,49,98), die aber keinen ausreichenden Abtransport der Lymphe gewährleisten konnten. Aus diesem Grund wurden Verfahren gesucht, durch Rekonstruktion der zerstörten Lymphbahnen mittels mikrochirurgischer Technik einen dauerhaften Erfolg zu erreichen. Man versuchte hierbei, den fehlenden Lymphgefäßbahnanschluß durch Lymphovenöse



und lymphonodovenöse Anastomosen oder Veneninterponate herzustellen (58). Das unterschiedliche Druckverhalten im venösen und lymphatischen System und die unzureichende Ernährung der Intima der Venentransplantate mit nachfolgender Nekrosenbildung führte nach anfänglicher Ödemreduktion nicht zu einem dauerhaften, kontinuierlichen Lymphabfluß. 1979 wurde von Baumeister und Seiferl (8,87) eine Methode zur kausalen Therapie des sekundären lymphostatischen Ödems vorgestellt: dabei wurde die Rekonstruktion geschädigter Lymphgefäßabschnitte mit autogenen Lymphgefäßtransplantaten vorgenommen und somit ein physiologischer Abstrom der Lymphe aus Ödemgebieten gewährleistet. Im Tierexperiment konnte Baumeister die technische Möglichkeit der lympho-lymphatischen Anastomosenbildung, die hohe Rate postoperativer Gefäßdurchgängigkeit sowie die Wirksamkeit der Lymphbahnrekonstruktion am experimentellen Lymphödem aufzeigen (10,12). Zwischen Juni 1980 und Dezember 1986 wurden aufgrund der positiven experimentellen Erfahrungen klinische Lymphgefäßtransplantationen bei 55 Patienten mit sekundärem lymphostatischen Ödem von oberer wie unterer Extremität durchgeführt (9,11): als Spenderlymphbahnen dienten autogene Lymphgefäße des oberflächlichen medialen Systems am Oberschenkel. Befand sich das Ödem an der oberen Extremität, wurden die Transplantate subcutan zwischen morphologisch erhaltenen Lymphkollektoren am Oberarm und tiefen Lymphkollektoren am Hals interponiert. An der unteren Extremität wurde das Transplantat subcutan über die Symphyse hinweggeleitet und mit aufsteigenden Kollektoren der kontralateralen Seite anastomosiert. Die Umfangsdifferenz des vorherigen Ödems verminderte sich nach dieser Transplantation um 50% - 60% und hielt sich im bisherigen Beobachtungszeitraum konstant. Nach diesen Erfolgen wurde von Gabka die Möglichkeit einer allogenen Transplantation von

Lymphgefäßkollektoren im Rattenmodell geprüft (44). Er zeigte auf, daß allogene Lymphgefäßtransplantate auch über einen längeren Zeitraum ohne Funktionsverlust den Abfluß der Lymphflüssigkeit gewährleisten. Die Methode der chirurgischen Lymphödemtherapie mittels Lymphgefäßtransplantation kann durch die Verwendung von allogenen Lymphgefäßtransplantaten bei fehlenden autogenen Spendergefäßen entschieden erweitert werden.

Bei der klinischen Anwendung einer allogenen Lymphgefäßtransplantation ergibt sich die Notwendigkeit, die Transplantate nach der Entnahme beim Spender bis zum Zeitpunkt der Operation des Empfängers adäquat zwischenzulagern. Auch im Operationsablauf der in der Klinik schon durchgeführten autogenen Lymphgefäßtransplantation bedürfen die aus der Spenderregion entnommenen Transplantate während der Zeit der Freipräparation und Vorbereitung der Empfangsregion einer Lagerung. Mit der Möglichkeit einer Transplantatlagerung könnte die Operationsdauer zugunsten einer zweizeitigen Operation reduziert werden. Die Transplantate sollten im Lagerungszeitraum so aufbewahrt werden, daß sie ihre spätere Aufgabe, das heißt die Beseitigung der lymphpflichtigen Last nach Transplantation in den Empfängerorganismus, uneingeschränkt erfüllen können. Eine zweite Anforderung sollte darin bestehen, daß die Lagerungsmethode ohne großen apparativen Aufwand im klinischen Bereich durchführbar ist.

Im Sinne einer erweiterbaren klinischen Anwendung der Lymphgefäßtransplantation zur Behandlung des lymphostatischen Ödems sollten somit im Tierexperiment folgende Fragen im einzelnen behandelt werden:

1. Wie hoch ist die untersucherspezifische Durchgängigkeitsrate von lympho-lymphatischen Anastomosen als Bezugsgröße für die Erfolgsbeurteilung der isogenen Lymphgefäßtransplantationen?

2. Welche morphologischen Veränderungen an Lymphgefäßsegmenten treten nach einer Lagerung auf?
3. Welche Auswirkungen hat eine Lagerung von Lymphgefäßtransplantaten auf Morphologie und Funktion der Transplantate nach einer isogenen Verpflanzung?

2. MATERIAL UND METHODIK

2.1. Versuchstiere und Versuchsanordnung

2.1.1. Long Evans Ratten

Zur Durchführung der Untersuchungen wurde der Ratteninzuchtstamm Long-Evans verwendet. Die Versuchstiere befanden sich in der 53. bis 56. Generation einer strengen Bruder-Schwester-Inzucht. Das Alter der Tiere betrug durchschnittlich achtzig Tage, das Körpergewicht lag zwischen 230 g und 390 g. Die Tiere waren beiderlei Geschlechts. Zur Aufbewahrung der Ratten dienten Makrolonkäfige mit Sägemehleinstreu. Die Raumtemperatur war konstant +22°C bei 55% relativer Luftfeuchtigkeit, die Kunstlichtbeleuchtung war im 12/12 Stundenrhythmus geregelt. Nach einer Operation wurden die Ratten einzeln gehalten. Die Tiere konnten sich mit Altromin^R-Trockenkost und unbehandeltem Leitungswasser ohne Limitierung ernähren.

2.1.2. Isogene Lymphgefäßtransplantation

Ein Teil der vorgesehenen Untersuchungen sollte den Einfluß einer Lagerung auf Struktur und Funktion von Lymphgefäßkollektoren nach einer Transplantation ermitteln. Dazu mußte vorher festgestellt werden, wie hoch die persönliche Durchgängigkeitsrate von mikrochirurgisch gefertigten Lymphgefäßanastomosen seitens des Untersuchers war. Damit ergab sich die Möglichkeit, die Ursache eventueller Anastomosenverschlüsse wegen untersucherabhängiger, d.h. operationstechnisch bedingter Fehler, besser einzuschätzen. Hierzu wurden 10 isogene Lymphgefäßtransplantationen an Long-Evans-Ratten durchgeführt.

Das isogene System ließ keine immunologischen Reaktionen erwarten, die zu einem Verschluß der Transplanta-

te hätten führen können (7). Die Tiere wurden nach einem Zeitraum von 1 Tag bis 36 Monaten einer Revisionsoperation zur Beurteilung des Transplantationserfolgs unterzogen.

2.1.3. Das Lagerungsmodell

Die Auswirkungen einer Lagerung auf die morphologische Beschaffenheit von Lymphgefäßen sollte an Segmenten des abdominellen Ductus thoracicus von Long-Evans-Ratten geklärt werden (Gruppe I). Für diese Untersuchungen wurde ein Lagerungsmodell entwickelt, das die Bedingungen, die im klinischen Einsatz für eine Transplantatlagerung entstehen würden, berücksichtigte. Ein Teil dieser Bedingungen besteht darin, daß verschieden lange Lagerungszeiten bei der klinischen Anwendung notwendig sind. Daher wurden drei verschiedene Lagerungszeiträume gewählt:

1. Die kurzfristige Lagerung umfaßte einen Zeitraum von einer halben bis zu zehn Stunden. Dies entspricht den Bedingungen, die beim Operationsablauf einer autogenen Lymphgefäßtransplantation am Menschen bestehen (7); die aus der Spenderegion entnommenen Lymphgefäßsegmente bedürfen während der Zeit der Präparation der Empfangsregion bis zum Beginn der Anastomosierung einer Aufbewahrung.
2. Eine mittelfristige Lagerungsdauer von acht Tagen entsteht sowohl bei einer möglichen zweizeitigen autogenen Lymphgefäßtransplantation wie auch bei einer allogenen Transplantation.
3. Um Transplantate für den Bedarfsfall auch längerfristig bereitstellen zu können, wurde die Möglichkeit einer langfristigen Lagerung von dreißig Tagen untersucht.

Von der Vorstellung ausgehend, ein im klinischen Bereich praktikables Lagerungsmodell zu schaffen, wurden vorrangig solche Substanzen als Lagerungsmedien gewählt, die in der Klinik leicht verfügbar sind und keines organisatorischen Aufwandes bedürfen:

1. Sterile physiologische Kochsalzlösung und
2. Ringer-Lactat Lösung (Zusammensetzung: 1 Liter enthält: 6 g NaCl, 0,4 g KCl, 0,271 g CaCl x 2H₂O, 3,05 g Na-Lactat, Aqua pro injektionen ad 1 l).

Auch die Lagerungstemperatur sollte ohne großen apparativen Aufwand eingehalten werden können. Geprüft wurde daher eine Aufbewahrung der Transplantate bei einer Temperatur von +20°C, entsprechend einer konstanten Raumtemperatur, und +4°C im Kühlschrank (Tab. 1).

Tabelle 1: Gruppe 1: Gelagerte Lymphgefäßsegmente

Kurzfristige Lagerung:

Lagerungsmedium:	NaCl 0,9%	NaCl 0,9%	Ringer-Lactat-Lösung
Lagerungstemperatur:	+4°C	+20°C	+4°C
Lagerungszeit: jeweils	1/2 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 10 h		

Mittelfristige Lagerung

Lagerungsmedium:	NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur:	+4°C
Lagerungsdauer:	8 Tage

Langfristige Lagerung:

Lagerungsmedium:	NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur:	+4°C
Lagerungsdauer:	30 Tage

Alle Lymphgefäßsegmente wurden nach der Explantation in das jeweilige Lagerungsmedium ohne Verzögerung eingebracht und der gewählten Temperatur ausgesetzt. Als Aufbewahrungsgefäße dienten verschließbare Kunststoff-Röhrchen der Firma EPPENDORF, die mit den sterilen Lösungen gefüllt waren. Nach Ablauf der Lagerungszeit wurden sämtliche Präparate sofort fixiert und dann den mikroskopischen Untersuchungen zugeführt.

2.1.4. Lagerungs-Transplantationsmodell

Zur Überprüfung des Einflusses einer Lagerung auf Morphologie und Funktion von Lymphgefäßtransplantaten nach ihrer Verpflanzung wurden Segmente des Ductus thoracicus einer Spenderratte (Long-Evans) entnommen, gelagert und in einem Empfängertier isogen transplantiert (Gruppe II). Die Anwendung eines isogenen Transplantationsmodells gewährleistete, daß nur die durch eine Lagerung, nicht aber die durch Abstoßungsreaktionen verursachten Gefäßveränderungen, wie sie bei allogenen Lymphgefäßtransplantationen zu beobachten sind (44), untersucht werden konnten. Zunächst wurden die bei den Spendertieren gewonnenen Transplantate gemäß den Konditionen des Lagerungsmodells behandelt. Darauf folgte die Transplantation, später die Revisionsoperation. Um die verschiedenen Phasen des Einbaus der Lymphgefäßsegmente im Empfängertier beurteilen zu können, wurden die Revisionsoperationen in zur Transplantation abgestuften Zeitabständen durchgeführt.

In der Gruppe der kurzfristig gelagerten und dann transplantierten Lymphgefäßsegmente fanden die Revisionsoperationen zwanzig Tage nach dem Ersteingriff statt. Nach den Erfahrungen bei isogenen Lymphgefäßtransplantationen (7,44) sind bis zu diesem Zeitpunkt erste Einbauvorgänge des Transplantates in den Ductus thoracicus des Empfängers abgelaufen. Auch die kurze

Lagerungsdauer und die damit zu erwartende geringere Beeinträchtigung rechtfertigen diesen frühen Kontrolltermin.

Die nach mittelfristiger Lagerung transplantierten Gefäßsegmente wurden in gestaffelten Intervallen zwischen zwei und vierzig Tagen p.op. wiedergewonnen, um den zeitlichen Ablauf der Reaktionen am und um das Transplantat verfolgen zu können.

Die Tiere mit langfristig gelagerten Lymphgefäßsegmenten wurden dreißig Tage nach dem Eingriff einer Revisionsoperation unterzogen, da hier durch die lange Lagerungsdauer am ehesten mit verzögerten Reparationsvorgängen gerechnet werden mußte.

Alle Präparate der Gruppe II wurden nach Durchführung von Untersuchungen am Ende der Revisionsoperation in situ fixiert, um danach einer mikroskopischen Beurteilung unterzogen zu werden (Tab. 2).

Tabelle 2: Gruppe II: Gelagerte und transplantierte Lymphgefäß-segmente

1. Transplantation nach kurzfristiger Lagerung

Lagerungsmedium: NaCl 0,9% NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur: +4°C +20°C
Lagerungszeit: jeweils 1/2 h, 1 h, 2 h, 6 h, 10 h
Revisionsoperationen: 20 Tage nach dem Primäreingriff

2. Transplantation nach mittelfristiger Lagerung

Lagerungsmedium: NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur: +4°C
Lagerungszeit: 8 Tage
Revisionsoperationen: 2 bis 40 Tage nach dem Primäreingriff

3. Transplantation nach langfristiger Lagerung

Lagerungsmedium: NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur: +4°C
Lagerungszeit: 30 Tage
Revisionsoperationen: 30 Tage nach dem Primäreingriff

Die Möglichkeit einer funktionserhaltenden Lagerung von Lymphgefäßkollektoren sowie deren anschließende Transplantation wurde an einem Rattenmodell zu klären versucht. Der abdominale Ductus thoracicus der Ratte im Gebiet zwischen Cysterna chyli und Zwerchfell diente hierbei als Spendebezirk. Dieser Abschnitt eignete sich durch den unverzweigten Gefäßverlauf und seine konstante Lage neben der Aorta gut für die Versuche. In den Revisionsoperationen wurde dadurch die Lokalisierbarkeit eines transplantierten Gefäßabschnittes erleichtert. Die auf Höhe der Nierenvenen gelegene Cysterna chyli nimmt den Truncus intestinalis und die beiden Trunci lumbales auf. Als relativ großlumiges Gefäß geht der Ductus thoracicus dann aus ihr hervor, verläuft links dorsal von der Aorta und tritt durch das Diaphragma (51,57,94) (Abb. 1).

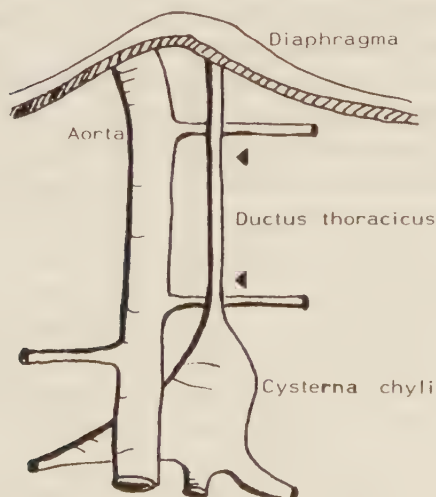


Abb. 1: Lage des abdominalen Ductus thoracicus der Ratte und Transplantatentnahmeregion(◄).

Die Wand des Ductus thoracicus ist ähnlich wie die von Blutgefäßen aus drei Schichten aufgebaut:

1. Die Intima setzt sich aus einer Basalmembran mit unregelmäßig begrenzten längsgestellten Endothelzellen zusammen. Das subendotheliale Bindegewebe besteht zum größten Teil aus Kollagenfasern, vereinzelt sind längsverlaufende Muskelfasern vorhanden.
2. Die Media enthält neben kollagenen und elastischen Fasern hauptsächlich Muskelfasern.
3. Die Adventitia beinhaltet grobe, längsverlaufende kollagene Fasern mit Vasa vasorum und Nervenfasern (39,40,84,103).

Die Anästhesie der Versuchstiere begann mit einer Äther-Kurznarkose in einem abgeschlossenen Glaszylinder. Darauf folgte eine intraperitoneale Applikation von Chloralhydrat in 3,6%iger Lösung, die Dosis betrug 0,9 ml/100 mg Körpergewicht. Hiermit wurde eine ca. 3 1/2- bis 4-stündige Narkose erreicht; überschritt die Dauer der Operation diese Zeitspanne, wurde Chloralhydrat mit ca. 0,5 ml Einzeldosis nachinjiziert.

Die Versuchstiere wurden rasiert und dann auf Korkplatten in Rücken- bzw. rechter Halbseitenlage fixiert. Der Rumpf des Tieres war somit für einen linksseitigen Rippenbogenrandschnitt, der weit nach dorsal und caudal geführt wurde, gut zugänglich.

Nach Eröffnung des Retroperitonealraumes erfolgte eine stumpfe Mobilisation von Milz, linker Niere und Nebenniere. Diese Organe wurden zusammen mit Darmteilen in eine mit 0,9%iger NaCl-Lösung getränkte Gaze gehüllt und auf die rechte Seite verlagert. Dort wurden sie mit einem speziell angefertigten, rechtwinkligen Retraktor fixiert. Mit einem zweiten Retraktor, der ebenfalls mit feuchter Gaze unterlegt war, konnte das Operationsfeld nach links vergrößert werden. Beide Retraktoren konnten mit Nadeln auf der Korkplatte beliebig fixiert werden. Nach dieser Vorbereitung lag nun die Aorta abdominalis

von ihren beiden Nierenarterienabgängen bis zum Diaphragma frei. Links parallel zur Aorta ließ sich oft in dieser Operationsphase schon unter einer Binde- und Fettgewebsschicht der milchig-weiß schimmernde Strang des Ductus thoracicus erkennen. Unter dem Operationsmikroskop wurde die Aorta nun von der Cysterna chyli ausgehend nach cranial freipräpariert und mit einem Haltefaden nach rechts verlagert. Darauf folgte die Darstellung des Ductus thoracicus auf einer Länge von ca. 10 mm, der sehr behutsam von ventralem, lateralem und dorsalem Fett- und Bindegewebe befreit wurde. Hierbei ist der Ductus aufgrund seiner geringen Wandstärke und der geringen optischen Differenzierungsmöglichkeit zwischen dünnen Fettgewebsschichten und Adventitia sehr verletzungsgefährdet. Ebenso kann eine zu hohe Präparation durch Eröffnung des Thorax zu einem Pneumothorax mit letalem Ausgang führen. In einem nächsten Schritt wurden bei den Spenderratten mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial (s. 2.3.3.) zwei Haltefäden am Ductus angelegt, die gleichzeitig auch Markierungsfunktion erfüllen sollten: ein Haltefaden wurde am linken proximalen Rand des Gefäßes, der andere am rechten distalen Rand befestigt. Der proximale Faden wurde zur Markierung doppelt so lang belassen wie der distale. Das Lymphgefäß wurde nun mit einer geraden Mikroschere mit zwei glatten Querschnitten durchtrennt.

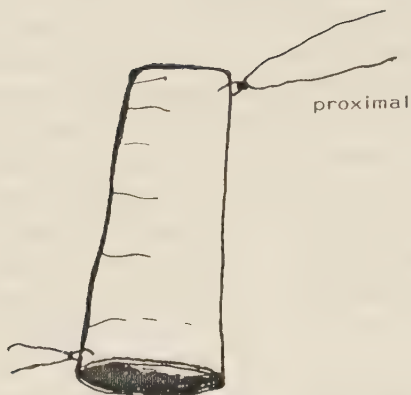


Abb. 2: Lymphgefäßsegment mit Markierungsfäden nach Entnahme:

Alle so gewonnenen Transplantate wurden nun in die jeweiligen Lagerungsmedien eingebracht: eine Gruppe von Lymphgefäßsegmenten wurde nach alleiniger Lagerung untersucht (Gruppe I). Eine zweite Gruppe wurde nach einer Lagerung in ein Empfängertier transplantiert und erst nach einer bestimmten Verweildauer und einer Revisionsoperation den funktionellen und mikroskopischen Untersuchungen zugeführt (Gruppe II).

Die Präparation des Ductus thoracicus des Empfängertieres verlief analog zur Vorgehensweise bei den Spendertieren. Die geplante Transplantationsstelle wurde mit zwei nicht resorbierbaren Haltefäden etwa in der Mitte des Lymphgefäßabschnittes markiert. Dabei lag der rechte Haltefaden mit seinen lang belassenen Enden etwas weiter proximal als der linke Faden mit seinen kurzen Enden (Abb. 3).

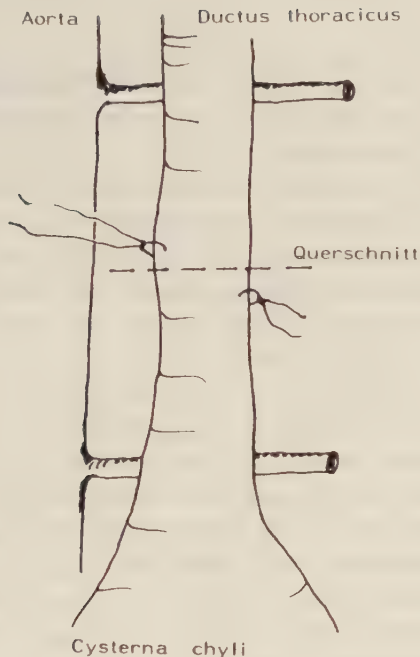


Abb. 3: Präparation der Anastomosenregion des Empfängertieres.

Diese Fäden erlaubten eine Identifikation der ursprünglichen Gefäßlage bei der späteren Anastomosierung. Zwischen den beiden Fäden erfolgte nun ein glatter Querschnitt. Dies führte zur Bildung einer Lücke zwischen den beiden Gefäßstümpfen, die sich aufgrund ihrer Eigenelastizität ca. 3 mm voneinander entfernten. In diesen Zwischenraum wurde das Transplantat eingebracht und anastomosiert (s. 2.4.). Nach Abschluß der Transplantation wurden die zuvor verlagerten Organe in ihre ursprüngliche Lage zurückgebracht, dann erfolgte der Verschluß des Abdomens mit einer Einzelknopfnah von Peritoneum und Muskulatur gemeinsam mit resorbierbarem Nahtmaterial.

In einer zweiten Schicht wurde die darüberliegende Haut überwindlich fortlaufend mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial verschlossen.

In einem festgesetzten Zeitabstand zu diesem Ersteingriff erfolgte in einer Revisionsoperation eine erneute Darstellung des Ductus thoracicus. Bei der Präparation, die von demselben Rippenbogenrandschnitt aus durchgeführt wurde, mußten oftmals erhebliche Verwachsungen im Gebiet des Transplantates beseitigt werden.

Der Ductus thoracicus wurde nun in vivo einer Inspektion und Durchgängigkeitsprüfung unterzogen, daran schloß sich die Fixierung des Transplantates samt eines proximalen und distalen Lymphgefäßschnittes in situ und die Entnahme an. Es wurde versucht, eine möglichst große Gefäßstrecke auf beiden Seiten des Transplantates zu gewinnen, um eventuelle Veränderungen in diesen Übergangsbereichen beurteilen zu können.

Die Spendertiere wurden nach Entnahme der Transplantate, die Empfängertiere nach Abschluß der Revisionsoperation in Vollnarkose entblutet.

2.3. Mikrochirurgische Ausstattung

Aufgrund der sehr kleinen anatomischen Verhältnisse im Zielgebiet der Operationen, der Ductus thoracicus der Ratte weist einen Durchmesser von 0,3 bis 1 mm auf, wurde für die Anlage von lympho-lymphatischen Anastomosen eine optische Vergrößerung, ein Mikroinstrumentarium sowie feinstes Nahtmaterial benötigt.

2.3.1. Optische Vergrößerung

Sowohl für die Entnahme von Ductus thoracicus-Segmenten als auch für die Anlage der Anastomosen wurde ein OP Mi 1 Operationsmikroskop der Firma ZEISS verwendet. Das auf einem fahrbaren Stativ montierte Mikroskop konnte von Hand verstellt werden. Ein Teil der Operationen wurde mit einem über einen Fußschalter elektrisch verstellbaren Mikroskop-Modell desselben Herstellers durchgeführt (OP Mi 6). Die optische Ausstattung setzte sich aus Binokulartuben mit einer Tubusbrennweite von 125 mm und einer 12,5-fachen Okularvergrößerung sowie einem Objektiv von 125 mm Brennweite zusammen. Damit konnten Vergrößerungen von 6- bis 40-fach erreicht werden.

Zur Beleuchtung wurde eine Koaxialleuchte mit einer 6 Volt/50 Watt-Glühlampe benutzt. Über einen Strahlenteiler in einem Phototubus war eine photographische Dokumentation mittels Kleinbildkamera möglich.

2.3.2. Instrumentarium

Für die mikrochirurgischen Präparationen sowie die Lymphgefäßanastomosen wurde eine Mikrobesteck der Firma SPRINGLER & TRITT verwendet. Es setzte sich aus mehreren geraden Pinzetten verschiedener Spitzenbreiten, einem gebogenen Nadelhalter und einer geraden Mikroschere zusammen.

2.3.3. Nahtmaterial

In Anbetracht der Feinheit und Verletzlichkeit der Lymphgefäßwände wurde ein atraumatisches Nahtmaterial zur Herstellung der Anastomosen verwendet. Der Faden bestand aus resorbierbarem Polyglactin 910 (Vicryl^R) monophil, violett, der Firma ETHICON. Die Stärke des Fadens betrug 10-0; er war armiert mit einer Rundkörnadel (3/8) BV 6. Dies entspricht einem Fadendurchmesser von 25 μ und einer Nadeldicke von 50 μ . Die am Transplantat bzw. am Ductus thoracicus des Empfänger-tiers angebrachten Haltefäden wurden mit nicht resorbierbarem Polyamid 6.6 (Ethilon^R) monophil, schwarz, der Firma ETHICON gefertigt. Die Fadenstärke betrug hierbei 11-0 (18 μ Durchmesser), armiert waren die Fäden ebenfalls mit Nadeln der Stärke BV 6 (50 μ).

2.4. Nahttechnik

Alle Transplantate wurden, wie oben erwähnt, mit zwei Haltefäden versehen. Hierzu wurde eine geschlossene Pinzette von lateral unter den Lymphgefäßstrang geführt und dieser leicht angehoben. Nun konnte die Nadel des Haltefadens am lateralen Gefäßrand von unten nach oben eingestochen werden, ohne daß ein Vernähen mit dem umliegenden Gewebe möglich war. Es wurde darauf geachtet, nur wenig Gefäßwand mit der Nadel zu fassen, um eine Einengung des Lumens beim nachfolgenden Knoten zu vermeiden.

Die Anastomosierung der gelagerten Lymphgefäßtransplantate bedurfte eines besonders schonenden Verfahrens. Sowohl die bereits bekannte Zerreißlichkeit der unbehandelten Lymphgefäßwand (6) als auch die in ihrem Ausmaß unbekannte Alteration der verschiedenen Gefäßwandschichten durch eine Lagerung mußten berücksichtigt werden. Mit der zugfreien Anastomosierungstechnik nach Baumeister (8) war es möglich, die üblicherweise bei der mikrochirurgischen Anastomosierung auftretenden Zugspannungen auf das Gefäß (26) und einen damit eventuell verbundenen Einriß der Gefäßwand zu vermeiden. Für das angewandte Verfahren ist es charakteristisch, daß das Lymphgefäß des Empfängertieres und das Transplantat während der gesamten Anastomosierung in fast unveränderter Position bleiben. Ebenfalls zur Schonung der zarten Gefäßwand wurde Wert darauf gelegt, beim Anfertigen der Naht das Lymphgefäß nicht unmittelbar mit den Instrumenten zu fassen. Vielmehr bediente man sich der vorher geknüpften seitlichen Markierungsfäden. Mittels dieser nicht resorbierbaren, verschieden lang belassenen Fäden war es möglich, sowohl das Transplantat in eine orthotope Position im Empfängertier zu bringen und sich während des Anastomosierungsvorganges der Haltefunktion zu bedienen als auch in der Revisionsoperation die Lage des Transplantates im Lymphgefäßstrang wiederzuerkennen.

Die Anastomosierung erfolgte mit Einzelknopfnähten. Es wurde mit der Knüpfung des proximalen Eckfadens begonnen. Hierzu wurde der Rand des Ductus thoracicus am Haltefaden mit der Pinzette leicht angehoben und die Nadel durch die Gefäßwand und dann die Transplantatwand geführt und in üblicher Weise geknüpft. Der Faden verläuft dabei von außen nach innen und wieder von innen nach außen, so daß der Knoten außerhalb des Lumens liegt (Abb. 4).

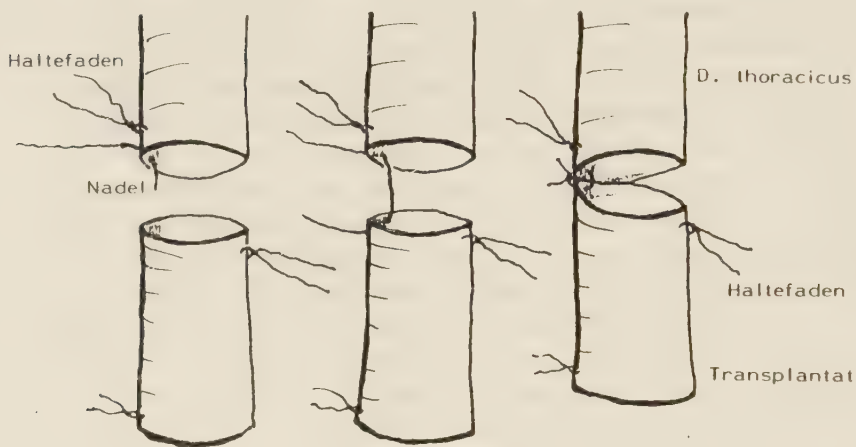


Abb. 4: Technik der zugfreien Anastomosierung (nach Baumeister).

Im zweiten Schritt erreichte man durch Knotung des distalen Eckfadens eine sichere Fixierung des Transplantates. Nun folgte die Verbindung der Hinterwände. Ohne Wendung des Gefäßes wurde die Naht von hinten außen in das Lumen und auf der Transplantatseite von innen nach außen geführt und dort geknotet. Nach Versorgung der Hinterwand wurde die Vorderwand mit Einzelknopfnähten verbunden. Eine fertige Anastomose bestand aus etwa 6 bis 8 Nähten (Abb. 5).

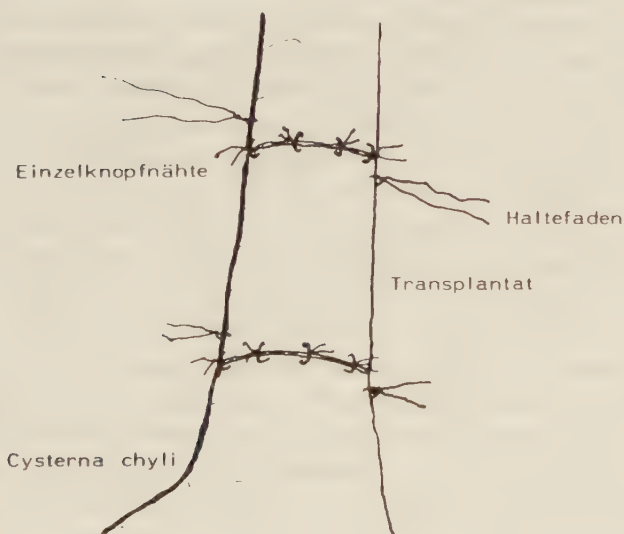


Abb. 5: Lage der Anastomosennähte.

Während des Anastomosierungsvorganges war eine genaue Identifizierung von Vorder- und Hinterwand des Transplantates und des Empfängerlymphgefäßes notwendig. Komplikationen entstanden, wenn die dünnen Gefäßwände kollabierten und dadurch aufeinander hafteten. Diesem Problem wurde mit einer subaqualen Präparation (0,9%ige NaCl-Lösung) begegnet. Weiterhin entstanden durch das Ausfließen und Gerinnen von Lymphe im Operationsgebiet Schwierigkeiten. Der Operationsablauf wurde dadurch erschwert, daß periodisch sich bildende Netze von Fibringerinnseln immer wieder vorsichtig entfernt werden mußten, um mit der Knüpfung der Anastomose fortfahren zu können. Bei einer der zehn Transplantationen, die allein zur Ermittlung der Operateur-bezogenen Durchgängigkeitsrate dienten, wurde zur Verhinderung des Einströmens von Lymphe der distale Gefäßstumpf mit einer ACLAND-Klemme C-I-V (15 Pa Auflagedruck) verschlossen (67). Meist jedoch wurde das Gerinnsel mit wenig Heparin, das mit einer Kanüle in das Operationsfeld getropft wurde, aufgelöst.

Unmittelbar nach Beendigung der Anastomosierung konnten durch Beobachtung von Dichtigkeit und Füllungszustand des proximalen Ductus thoracicus-Abschnittes erste Anhaltspunkte für das Gelingen einer Transplantation und die Durchgängigkeit des Transplantates gewonnen werden.

2.5. Untersuchungsmethoden

Während die allein für eine Lagerung vorgesehenen Lymphgefäßsegmente direkt nach Ablauf der Lagerungszeit fixiert und ihren Untersuchungen zugeführt werden konnten, mußten die transplantierten Lymphgefäße in einer Revisionsoperation erneut gewonnen werden. Eine weitgehend vollständige Freipräparation des gesamten Ductus thoracicus war oftmals durch Verwachsungen im Operationsgebiet erschwert. Wenn der Präparationsvorgang die Unversehrtheit des Transplantatabschnittes gefährdete, wurde auf ein weiteres Vorgehen verzichtet und das Präparat en bloc entnommen.

2.5.1. Intraoperative Inspektion

Nach Freilegung des Ductus thoracicus wurde in situ unter dem Operationsmikroskop am lebenden Tier beurteilt:

1. Die anatomische Gestalt des Lymphgefäßstranges, insbesondere den Füllungszustand mit Lymphe vor, im und nach dem Transplantationsabschnitt. Weiter wurden Gewebsverfärbungen der Gefäßwand wie auch der Umgebung registriert.
2. Funktion und Elastizität der Gefäßwände wurde nach leichter Massage der Cysterna chyli, die zu einem Einstrom der Lymphflüssigkeit in den Ductus führte, beobachtet. Hierbei wurde insbesondere darauf geachtet, ob bei dieser Funktionsbeanspruchung Verschlüsse, Stenosen oder Undichtigkeiten sichtbar wurden.

2.5.2. Durchgängigkeitsprüfung mittels Farbstoffinjektion

Zur Prüfung des ungehinderten Lymphflusses durch den Transplantatabschnitt wurde der steril abgefüllte Farbstoff Patentblau V^R der Firma BYK-GULDEN verwendet: in ein von caudal in die Cysterna chyli einmündendes

Lymphgefäß des Truncus lumbalis oder die Cysterna selbst wurde nach Freipräparation und Inzision ein Polyäthylenschlauch (Fa. PORTEX, $\phi = 0,61$ mm) eingeführt, durch den der Farbstoff in 11%iger Lösung injiziert werden konnte. Um ein eventuelles Zurückfließen des Farbstoffes zu vermeiden, wurde der Katheter mit einem um das Lymphgefäß geschlungenen 9-0-Faden fixiert und damit die Eintrittsstelle abgedichtet. Als Nachweis für eine durchgängige Anastomose wurde gewertet, daß der Farbstoff proximal der Transplantatstrecke im Lumen zu erkennen war und nach cranial weiter abfloß. Eine photographische Dokumentation erfolgte über eine am Mikroskop montierte Kleinbildkamera.

2.5.3. Durchgängigkeitsprüfung mittels Lymphographie

Mit dem radiologischen Verfahren der Lymphographie sollte ebenfalls die Durchgängigkeit des Transplantatabschnittes im Ductus thoracicus überprüft werden. Zur Applikation des Röntgenkontrastmittels diente der distal in oben beschriebener Weise in das Lumen eingeführte Katheter. Als Kontrastmittel wurde Lipiodol-Ultrafluid^R der Firma BYK GULDEN verwendet. Unter Durchleuchtungskontrolle konnte der Abstrom des kontinuierlich eingebrachten Kontrastmittels verfolgt werden. Zur Durchleuchtung und Bilddokumentation diente eine PHILLIPS Diagnostik OP Röntgeneinrichtung mit einer Anodia ANS-100 x 100 mm Filmkamera. Die Durchgängigkeit des Transplantates galt als gesichert, wenn sich der intraluminale Abfluß des Kontrastmittels von der Injektionsstelle bis zur Einmündung des Ductus thoracicus in den Venenwinkel darstellen ließ. Zur Identifizierung des Transplantatabschnittes im Lymphgefäßstrang auf dem Röntgenfilm wurde dieser mit Metallkanülen von lateral in seiner Lage markiert.

2.5.4. Elektronenmikroskopische Untersuchung

Alle Lymphgefäßsegmente wurden einer elektronenmikroskopischen Untersuchung zugeführt. Die Segmente des Lagerungsmodells (Gruppe I) wurden sofort nach Ablauf ihrer Lagerungszeit fixiert, indem man sie aus dem Lagerungsmedium direkt in ein Bad mit 2%iger Glutaraldehyd-Lösung tauchte.

Die Lymphgefäßsegmente des Lagerungs-/Transplantationsmodells (Gruppe II) wurden nach Abschluß der Durchgängigkeitsprüfungen am Ende der Revisionsoperationen in situ durch Perfusion mit 2%iger Glutaraldehyd-Lösung intraluminal fixiert. Der weitere Untersuchungsgang war für beide Gruppen gleich; beide Präparatengruppen wurden nach 6 Stunden Fixation in einer Pufferlösung aufbewahrt. Die darauf folgenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen führte Herr Professor Liebich im Tieranatomischen Institut der Universität durch:

1. Rasterelektronenmikroskopie

Als Gerät diente ein Jeol-35-C Rasterelektronenmikroskop. Die Gewebeproben wurden stufenweise entwässert und in Aceton "critical-point" getrocknet.

2. Transmissionselektronenmikroskopie

Korrespondierende Gewebstücke wurden für die transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung routinemäßig fixiert, mit 1% OsO_4 kontrastiert, entwässert und in Araldit eingebettet. Die danach hergestellten Ultradünnschnitte wurde mit Uranyl-Acetat und Blei-Citrat nachkontrastiert und in einem Elmiskop 101 der Firma SIEMENS untersucht.

Das Ziel der Untersuchungen lag in der Beurteilung von morphologischen Veränderungen der Lymphgefäßwand nach einer Lagerung. Ebenso sollte die Reaktion der gelagerten Lymphgefäße nach einer Transplantation betrachtet werden. Hierbei wurde besonderes Augenmerk auf Entzündungszeichen in Form von Ödemen, Zellinfiltrationen und Endothelverlust gelegt. Die funktionelle Durchgängigkeit

der Anastomosen sowie die Umbauvorgänge an den Transplantatenden wurden untersucht.

3. ERGEBNISSE

3.1. Isogene Lymphgefäßtransplantation

Um die untersucherspezifische Durchgängigkeitsrate zu ermitteln, wurden zehn isogene Transplantationen von Ductus thoracicus-Segmenten in oben beschriebener Weise durchgeführt. Die Revisionsoperationen fanden einen Tag bis 36 Monate nach Ersteingriff statt, die Beobachtungszeit betrug median 203,5 Tage.

Während der Revisionsoperationen zeigte keines der Tiere ein Lymphödem oder eine Lymphfistel im Bauchraum oder äußerlich sichtbare Zeichen einer Lymphstauung in abhängigen Körperpartien. Bei zwei Tieren trat ein bzw. zwei Tage nach Transplantation ein Exitus ein, sodaß die Revisionsoperation am toten Situs vorgenommen werden mußte. Bei beiden Ratten war während der Erstoperation wegen ungenügender Narkose zusätzlich 0,2 ml Chloralhydrat pro 100 mg Körpergewicht nachinjiziert worden.

3.1.1. Intraoperative Inspektion

Bei allen Revisionsoperationen gelang es, die Transplantate wieder aufzufinden und darzustellen. Die nichtresorbierbaren Haltefäden an den Transplantatenden erleichterten hierbei die Identifikation der Anastomosenregion. Die saubere Präparation des Gefäßstranges wurde durch teilweise starkes Granulationsgewebe über dem Transplantat und in der Umgebung erschwert. Wenn die Unversehrtheit des Lymphgefäßes durch das Präparieren gefährdet war, verzichtete man auf eine weitere Freilegung und führte nach Abschluß der Untersuchungen eine "en bloc" Resektion durch.

Bei der äußerlichen Beurteilung unter dem Operationsmikroskop ließen sich bei keinem der Transplantate Undichtigkeiten, Aneurismen oder Nekrosen in Form von

Gewebsverfärbungen der Gefäßwand erkennen.

Bei den Transplantaten, die über einen langen Zeitraum im Tier implantiert waren, war eine Abstandsvergrößerung zwischen dem proximalen und distalen Markierungsfaden erkennbar. Wurde hierbei ein Lymphgefäß mit kleinem Durchmesser transplantiert, so hatte die Transplantatregion auch bei der Revisionsoperation ein, im Vergleich zum sonstigen Ductus thoracicus, schmaleres Erscheinungsbild.

Nach vorsichtiger Massage der Cysterna chyli ließ sich bei sämtlichen Tieren eine vermehrte Füllung der Transplantate mit Lymphflüssigkeit erkennen. Dabei zeigte diese Region eine erstaunliche Elastizität der Gefäßwände, die auch durch behutsame kurzzeitige Abklemmversuche mit der Mikropinzette cranial des Transplantates demonstriert werden konnte. Bei den beiden nur einen bzw. zwei Tage im Tier befindlichen Transplantaten wurde auf diese "Provokationstests" verzichtet, da in dieser Frühphase die Empfindlichkeit der Anastomose noch zu hoch erschien. Da der Lymphfluß durch alle Transplantate ungehindert möglich schien, wurden alle Operationen als erfolgreich beurteilt.



Abb. 6: Isogen transplantiertes *D. thoracicus* 440 Tage p.op. nach Präparation bei der Revisionsoperation.

3.1.2. Durchgängigkeitsprüfung mittels Farbstoffinjektion

Um die Durchgängigkeit der Transplantate sicherer nachweisen zu können, wurde durch einen Kunststoffkatheter der Farbstoff Patentblau in die Cysterna chyli injiziert und sein Abstrom nach cranial beobachtet. Mit diesem Vorgehen ließ sich bei allen Transplantaten eine Durchgängigkeit aufzeigen. Durch Variation des manuellen Druckes an der den Farbstoff enthaltenden 1 ml-Spritze ließ sich die Transportkapazität im Transplantatbereich genauer beobachten. Bei Aufwendung eines nur geringen Druckes und damit einer kleinen Menge von Farbstoff stellte sich das Transplantatlumen, wie auch die übrige Gefäßstrecke, nicht in ganzer Breite dar.

Dieser niedrige intraluminale Druck könnte annähernd den physiologischen Lymphflußverhältnissen im Ductus thoracicus von Ratten entsprechen. Die Beobachtung des Farbstoffabstromes in einem unbehandelten Ductus thoracicus hatte das gleiche Bild geboten. Reinhardt (83) beschrieb diese Durchflußrate mit 2 ml/kg/h. Erhöhte man den Injektionsdruck, ließ sich zunächst eine Blaufärbung des gesamten Lumens, bei weiterer Steigerung sogar eine Aufdehnung der Gefäßwände erkennen. Hierbei fiel auf, daß die Transplantatwände unter dieser erhöhten Druck-Volumenanforderung ein unterschiedliches Verhalten zeigten. Lag der Ersteingriff erst kurze Zeit zurück, war die Elastizität dieses Gefäßabschnittes in den beiden Anastomosenbereichen eingeschränkt, während sich der Mittelteil dehnte. Dagegen reagierten die über einen langen Zeitraum belassenen Transplantate im gesamten Gefäßverlauf ohne Stenosierungszeichen. Diese Untersuchungen wiesen darauf hin, daß die Transportkapazität der Transplantate sowohl bei normaler Perfusion als auch bei erhöhter Beanspruchung ausreichend schien. Eine Quantifizierung des Lymphabstromes mit einer direkten Meßmethode scheiterte an den geringen Dimensionen von Lymphgefäßen und Durchflußvolumina. Um die morphologische Integrität der Lymphgefäßwandschichten zu bewahren, wurde nach eigenen Erfahrungen in Vorversuchen mit Perfusor-Pumpen von weiteren quantitativen Meßversuchen abgesehen.



Abb. 7: Isogenes D. thoracicus-Transplantat 440 Tage p.op. nach Farbstoffinjektion.

3.1.3. Durchgängigkeitsprüfung mittels Lymphographie

Die radiologische Darstellung der Durchgängigkeit der Transplantate mit einem öligen Kontrastmittel (Lipiodol^R) wurde nur in zwei Fällen (30 und 198 Tage p.op.) durchgeführt. Es konnte nicht gänzlich ausgeschlossen werden, daß diese Substanz das Endothel der Transplantate schädigend beeinflussen und damit eine Beeinträchtigung der elektronenmikroskopischen Untersuchungen verursachen würde (75). Auf nachstehender Abbildung ist die Lymphographie eines Ductus thoracicus 30 Tage nach

Transplantation dargestellt. Das durch den Katheter in die Cysterna chyli injizierte Kontrastmittel passiert den Transplantatbereich ungehindert und fließt nach cranial in den Venenwinkel ab. Die Transplantatstrecke befindet sich an den Markierungszeichen, es lassen sich weder Undichtigkeiten des Gefäßes noch Stenosen erkennen. Alle geprüften Transplantate zeigten bei dieser Untersuchung Durchgängigkeit.

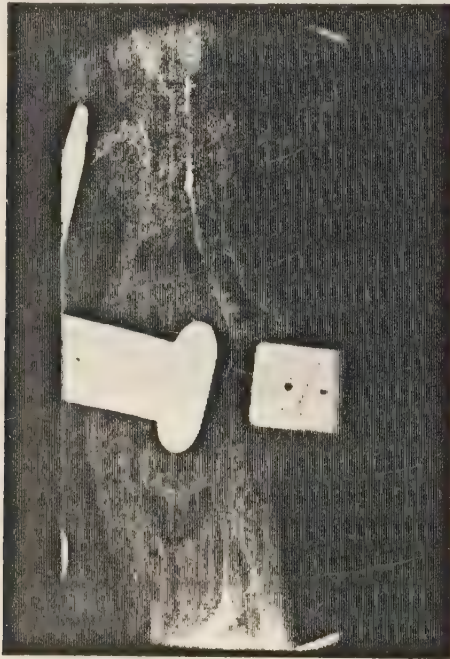


Abb. 8: Röntgendarstellung mit Kontrastmittel:

Isogenes D. thoracicus-Transplantat 30 Tage p.op..
Markierung des Transplantatabschnittes durch Pfeil.
Unbehinderter Abfluß des Kontrastmittels nach cranial.

Nach Abschluß der Lymphographie und Abströmen des Kontrastmittels wurden die Lymphgefäße über den Katheter mit 0,9% NaCl-Lösung durchspült, um dann durch die Glutaraldehyd-Fixierung für die elektronenmikroskopische Untersuchung vorbereitet zu werden.

3.1.4. Elektronenmikroskopische Untersuchung

Die mit der Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie untersuchten Transplantate zeigten alle eine freie Durchgängigkeit des Lumens. Es waren weder Abstoßungsreaktionen, noch Stenosierungen oder Thrombenbildungen feststellbar. Bei allen Transplantaten war ein geschlossener Endothelbelag zu erkennen, der auch im Bereich der Nahtstellen das Lumen ohne Unterbrechung auskleidete. Als tragendes Element dieses Endothels diente ein Gerüst aus subendothelialen Kollagenfasern. Diese bildeten eine Schicht aus weitgehend geordneten Quer- und Längsfaserbündeln.



Abb. 9: Isogenes *D. thoracicus*-Transplantat 2 Tage p.op. im transmissionselektronenmikroskopischen Bild(TEM). Vergr.: 14.000-fach.



Abb. 10: Isogenes D. thoracicus-Transplantat 30 Tage p.op. im transmissionselektronenmikroskopischen Bild (TEM).
Vergr.: 12.000-fach.

Die so untersuchten Ductus thoracicus-Transplantate hatten eine Verweildauer im Tier von median 210,5 Tagen. Die nachfolgende Tabelle 3 enthält die Ergebnisse der isogenen Lymphgefäßtransplantation.

Da sich alle 10 Transplantate als durchgängig erwiesen hatten, konnte davon ausgegangen werden, daß die Lymphgefäßtransplantation in zugfreier Anastomosierungstechnik beherrscht wurde und in den folgenden Transplantationen mit gelagerten Lymphgefäßsegmenten mit keiner wesentlichen operationstechnischen Fehlerquote zu rechnen war.

Tabelle 3: Ergebnisse der isogenen Lymphgefäßtransplantation

Ratte Nr.	Spender	Empfänger	Beobachtungs- zeit (d)	Durchgängigkeit: Nachuntersuchungen:			Lympho- graphie	Elektronen- mikroskopie
				Inspektion	Farbstoff- injektion			
1	LE	LE	322	+	+			+
2	LE	LE	198	+	+		+	+
3	LE	LE	365	+	+			+
4	LE	LE	210	+	+			+
5	LE	LE	211	+	+			+
6	LE	LE	2	+	+			+
7	LE	LE	440	+	+			+
8	LE	LE	1	+	+			+
9	LE	LE	27	+	+			+
10	LE	LE	30	+	+		+	+

3.2. Lagerung von Ductus thoracicus-Segmenten (Gruppe I)

Segmente des abdominellen Ductus thoracicus von Long-Evans-Ratten wurden in einer Länge von 3-4 mm entnommen und sofort einem Lagerungsmedium zugeführt. Dabei sollte in Hinblick auf eine zukünftige Verwendung von gelagerten Lymphgefäßen für eine Transplantation in diesen Vorversuchen geklärt werden, welches Lagerungsmedium und welche Lagerungstemperatur bei vorgegebenen Lagerungsfristen die günstigsten Bedingungen bieten würden.

3.2.1. Kurzfristige Lagerung

Die kurzfristigen Lagerungsintervalle zwischen 30 Minuten und 10 Stunden spiegeln die möglichen zeitlichen Anforderungen einer Transplantataufbewahrung während der autologen Lymphgefäßtransplantation am Menschen wieder (7). Es sollte untersucht werden, wie stark die Veränderungen an der Struktur der Lymphgefäßwand bei Verwendung von 0,9%iger NaCl-Lösung unter +4°C und +20°C oder von Ringer'scher - Nährlösung unter +4°C waren. Dazu wurden insgesamt 21 Lymphgefäßsegmente entnommen und nach dem jeweiligen Lagerungsmodus behandelt. Die Lagerungsparameter sind im einzelnen in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4: Kurzfristige Lagerung von Lymphgefäßsegmenten

Lagerungsmedium:	NaCl 0,9%	NaCl 0,9%	Ringer'sche Lösung
Lagerungstemperatur:	+4°C	+20°C	+4°C
	n	n	n
Lagerungszeiten: 1/2 h	1	1	1
1 h	1	1	1
2 h	1	1	1
3 h	1	1	1
4 h	1	1	1
6 h	1	1	1
10 h	1	1	1

Nach Ablauf der jeweiligen Lagerungszeit wurden die Lymphgefäßsegmente einer kurzen Inspektion mit dem Operationsmikroskop unterzogen. Bei keinem der Transplantate ließen sich auf diese Weise Veränderungen in Form von Gewebefärbungen oder ödematöser Aufquellung der Gefäßwände erkennen. Ebenso wenig konnte eine Auflösung der Wandstruktur mit Bildung von Aneurismen und Perforationen beobachtet werden. Nach entsprechender Vorbereitung (s.o.) wurden die elektronenmikroskopischen Untersuchungen durchgeführt. In Abbildung 11 und Abbildung 12 wird zunächst die normale morphologische Struktur eines unbehandelten Ductus thoracicus-Segmentes gezeigt. Im rasterelektronenmikroskopischen Bild ist zu sehen, daß das Lumen des Gefäßes von einer aus Endothelzellen aufgebauten Schicht ausgekleidet wird, die eine weitgehend lückenlose Oberfläche bildet. Die einzelnen Bestandteile der Wand sind nur undeutlich voneinander abgegrenzt und erscheinen mikrovilliähnlich miteinander verzahnt. Im korrespondierenden Ultradünnschnitt, in transmissionselektronenmikroskopischer Technik,

läßt sich eine abgeplattete Endothelzelle erkennen, darunter straff geordnete Kollagenfasern des Typs I, die in regelmäßigem Wechsel von Quer- und Längsbündeln angeordnet sind. Daneben treten Kollagenfasern vom Typ III, sowie in tieferen Wandschichten Kapillaren, Fibrozyten und einzelne Fettzellen auf.

LU

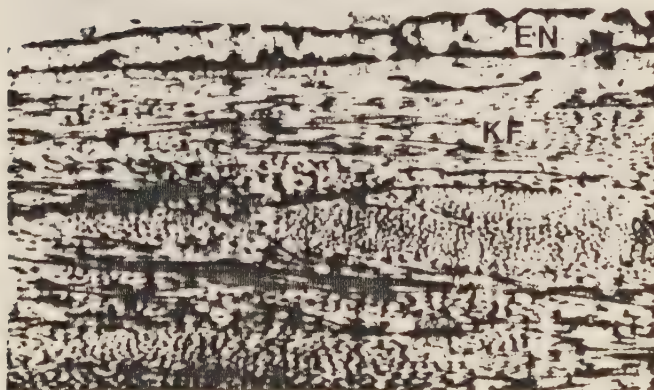


Abb. 11: Unbehandeltes *D. thoracicus*-Segment im Ultradünnschnitt (TEM). Vergr.: 12.000-fach.

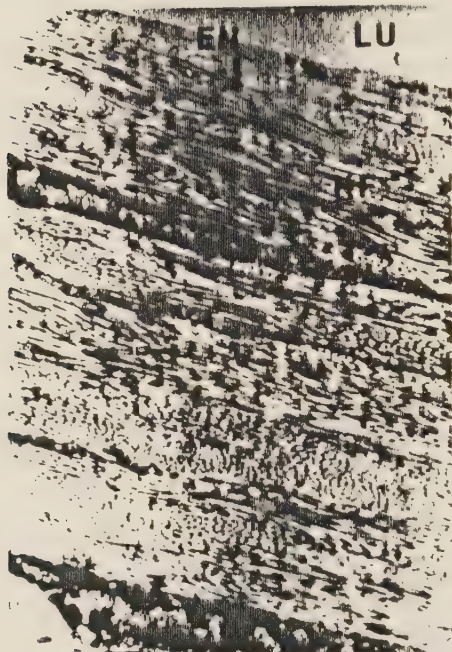


Abb. 12: Unbehandeltes *D. thoracicus*-Segment im Ultradünnschnitt (TEM). Vergr.: 12.000-fach.

Beim Vergleich der in NaCl-Lösung und der in Ringer-Nährlösung bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrten Lymphgefäße zeigten sich für alle Lagerungsintervalle keine gravierenden Unterschiede im Ausmaß der Beeinträchtigung der Wandstruktur. Die Lagerung in NaCl-Lösung bei $+20^{\circ}\text{C}$ wirkte sich dagegen bereits zu einem früheren Zeitpunkt verändernd auf die Gefäßwände aus.

Im einzelnen blieb innerhalb von 30 Minuten bis zu 4 Stunden Lagerungszeit eine weitgehend geschlossene Lamina endothelialis erhalten. Nur an wenigen Stellen war eine Abhebung des Endothels vom darunterliegenden Kollagenfasergestüt zu beobachten. Diese Ablösung konnte

als Verband von einzelnen Endothelzellen und partiell auch als flächige Abtrennung auftreten. In Abb. 13 und Abb. 14 sind die Verhältnisse nach einer Lagerung von einer halben Stunde in NaCl-Lösung bzw. Ringer-Nährlösung bei +4°C dargestellt.



Abb. 13: D. thoracicus-Segment nach 1/2-stündiger Lagerung in NaCl-Lösung bei +4°C im TEM-Bild. Vergr.: 9.000-fach.

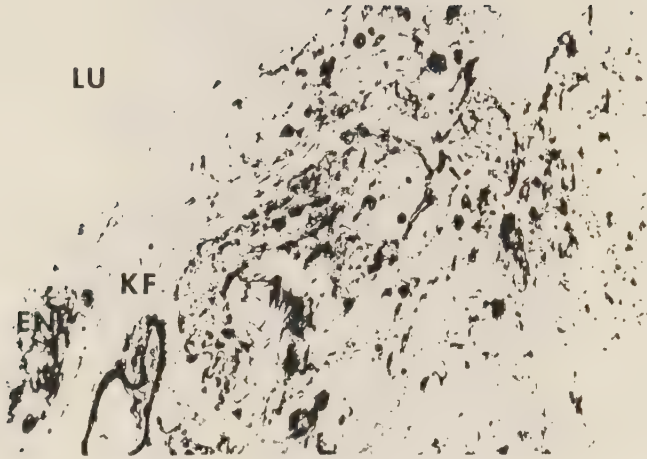


Abb. 14: D. thoracicus-Segment nach 1/2-stündiger Lagerung in Ringer-Lösung bei +4°C im TEM-Bild. Vergr.: 9.000-fach.

Der Vorgang langsam fortschreitender Endothelabhebung wird in der Abbildung 15 sichtbar, die den Zustand nach zweistündiger Lagerungszeit bei +4°C in NaCl-Lösung demonstriert.

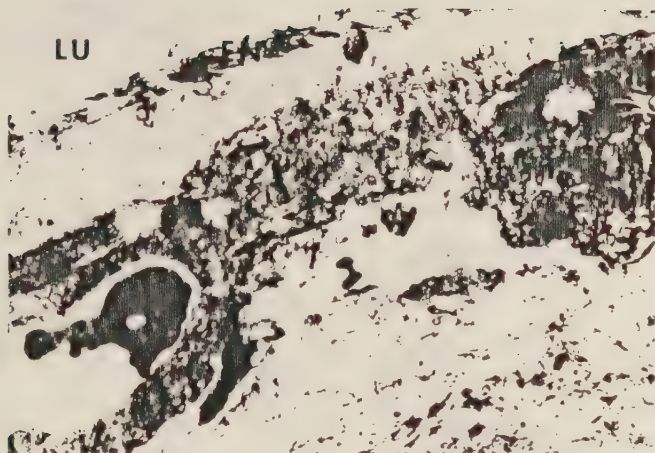


Abb. 15: D. thoracicus-Segment nach 2-stündiger Lagerung in NaCl-Lösung bei +4°C im TEM-Bild. Vergr.: 9.000-fach.

Nach sechsstündiger Lagerungsdauer konnten bei allen Präparaten vermehrt auftretende epitheliolytische Vorgänge beobachtet werden. Zusätzlich kam es nach diesem Zeitraum zu Umstrukturierungen der subendothelialen Kollagenfaserschichten. Das vorher dicht und geordnet aufgebaute Fasergerüst hatte sich aufgelockert. Hier wurde deutlich, daß der Ausprägungsgrad dieser Veränderungen bei den bei +20°C gelagerten Proben stärker ist als bei der +4°C Lagerung (Abb. 16,17).



Abb. 16: *D. thoracicus*-Segment nach 6-stündiger Lagerung in NaCl-Lösung bei +20°C im TEM-Bild. Vergr.: 9.000-fach.

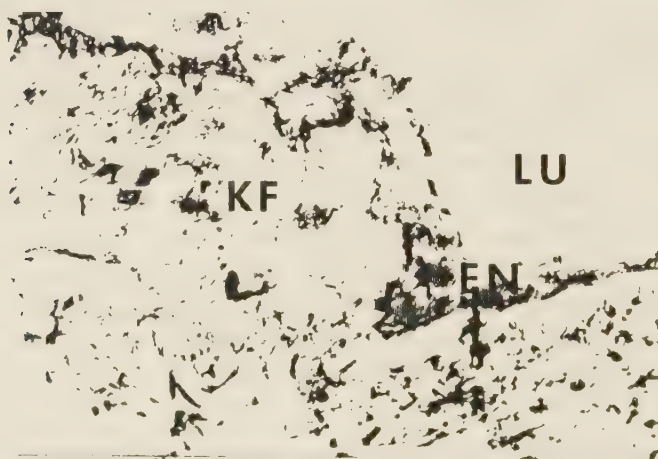


Abb. 17: *D. thoracicus*-Segment nach 6-stündiger Lagerung in NaCl-Lösung bei +4°C im TEM-Bild. Vergr.: 9.000-fach.

Nach zehn Stunden Lagerungszeit ließ sich in allen Fällen eine vollständige Ablösung des Endothels feststellen. Das unterlagernde Bindegewebe erschien auch hier wieder nach der Lagerungstemperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ dichter als nach der Lagerung bei $+20^{\circ}\text{C}$ (Abb. 18, 19).

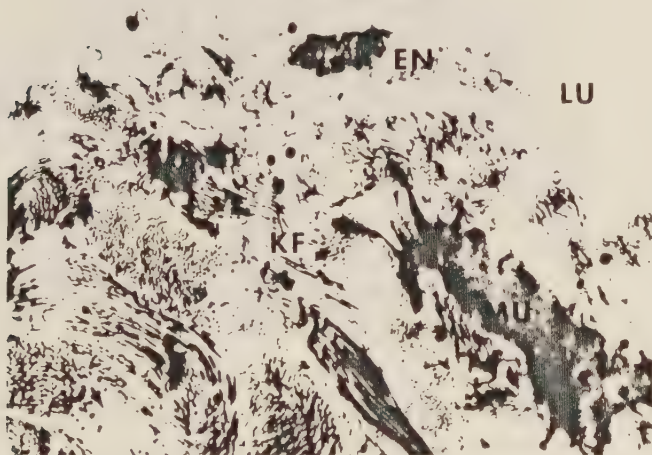


Abb. 18: *D. thoracicus*-Segment nach 10-stündiger Lagerung in NaCl-Lösung bei $+4^{\circ}\text{C}$ im TEM-Bild. Vergr.: 9.000-fach.

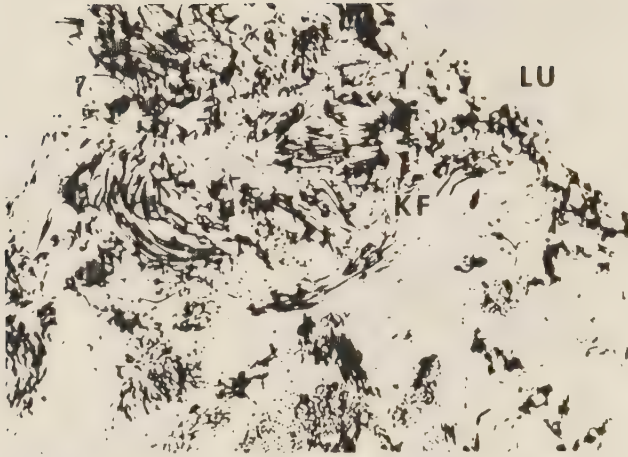


Abb. 19: D.-thoracicus-Segment nach 10-stündiger Lagerung in NaCl-Lösung bei +20°C im TEM-Bild. Vergr.: 9.000-fach.

Die Versuche der kurzfristigen Lagerung von Lymphgefäßsegmenten zeigten, daß die Verwendung von 0,9%iger NaCl-Lösung verglichen mit Ringer'scher-Nährlösung bei +4°C keinen Unterschied bezüglich der Gefäßwandveränderung aufwies. Die grobe Wandstruktur blieb erhalten, mit längerer Lagerungsdauer nahmen die Ablösung des Endothels und die Auflockerung der subendothelialen Schicht zu. Beträgt die Lagerungstemperatur dagegen +20°C treten diese Veränderungen bereits zu einem früheren Zeitpunkt auf.

3.2.2. Mittelfristige Lagerung

Den Ergebnissen der kurzfristigen Lagerungsversuche folgend wurden für das mittelfristige Lagerungsintervall als Lagerungsmedium 0,9%ige NaCl-Lösung und als Lagerungstemperatur +4°C gewählt. Die Lagerungsdauer von acht Tagen sollte hierbei der Möglichkeit entsprechen, eine eventuell zehn Stunden beanspruchende autologe Lymphgefäßtransplantation am Menschen zweizeitig durchführen zu können. Auch eine zukünftige allogene Transplantation würde zumindest diese Anforderung an die Lagerungszeit stellen. Sieben Ductus thoracicus-Segmente wurden diesen Lagerungsmodalitäten unterworfen (Tab. 5).

Tabelle 5: Mittelfristige Lagerung von Lymphgefäßsegmenten

Lagerungsmedium:	NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur:	+4°C
Lagerungszeit:	8 Tage
n:	7

Die Inspektion der Lymphgefäße unter dem Operationsmikroskop nach Ablauf der achttägigen Lagerungsfrist ergab keinen Anhalt für eine grobe Veränderung der Wandstruktur. Auch Form und Farbe der Präparate zeigten keine Auffälligkeiten.

Im elektronenmikroskopischen Bild wurde ein großflächiges Abheben der Lamina endothelialis sichtbar. Zu beobachten waren außerdem eine partielle Zelllysis und Kernpyknose der Endothelzellen. Im subendothelialen Bereich fand sich eine weitgehende Desintegration der feinfibrillären kollagenen Elemente. Auch die Lyse von Fibrozyten konnte festgestellt werden. Dagegen hatten die

in der peripheren Gefäßwand befindlichen Kollagenfasern ihre parallelfaserige Anordnung weitgehend beibehalten und wiesen auch keine sonstigen Strukturveränderungen auf (Abb.20).

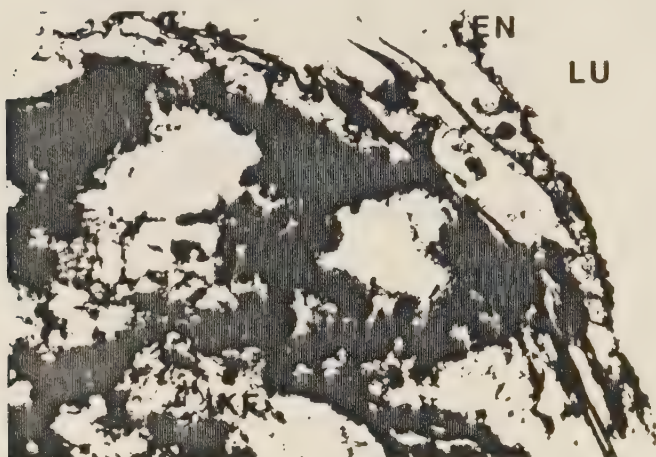


Abb. 20: D. thoracicus-Segment nach 8-tägiger Lagerung in NaCl-Lösung bei +4°C im TEM-Bild. Vergr.: 9.000-fach

Die Reaktion der Lymphgefäßwände auf die achttägige Lagerungsdauer war demnach stärker als bei der Kurzzeitlagerung. Eine völlige Auflösung der ursprünglichen Struktur lag jedoch nicht vor. Alterationen der Gefäßwand fanden mehr im endothelialen und subendothelialen als im peripheren Wandbereich statt.

3.2.3. Langfristige Lagerung

Um Lymphgefäßsegmente weitgehend unabhängig vom Zeitpunkt einer Explantation autogen oder allogentransplantieren zu können, war die Untersuchung eines längeren Lagerungsintervalls notwendig. Es wurden daher sieben Gefäßabschnitte entnommen und über einen Zeitraum von dreißig Tagen in 0,9%iger NaCl-Lösung bei +4°C gelagert (Tab. 6).

Tabelle 6: Langfristig gelagerte Lymphgefäßsegmente

Lagerungsmedium:	NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur:	+4°C
Lagerungszeit:	30 Tage
n:	7

Wiederum ließen sich unter dem Operationsmikroskop äußerlich keine strukturellen Auffälligkeiten nach dieser Frist feststellen. Die elektronenmikroskopische Untersuchung dagegen zeigte, daß die Auskleidung des Gefäßlumens nicht mehr von Endothelzellen gebildet wurde. Diese bedeckten nur noch fragmentiert die innere Oberfläche. An ihre Stelle waren weitgehend geordnete Kollagenfaserbündel getreten, wie auf den Abbildungen 21 und 22 zu sehen ist. Neben diesen Umstrukturierungen im endothelialen und subendothelialen Bereich boten die tieferen Schichten der Wand ein einheitliches, geschlossenes Bild (Abb. 21,22,23).



Abb. 21: *D. thoracicus*-Segment nach 30-tägiger Lagerung in NaCl-Lösung bei +4°C im REM-Bild. Vergr.: 260-fach.



Abb. 22: *D. thoracicus*-Segment nach 30-tägiger Lagerung in NaCl-Lösung bei +4°C im REM-Bild. Vergr.: 780-fach.

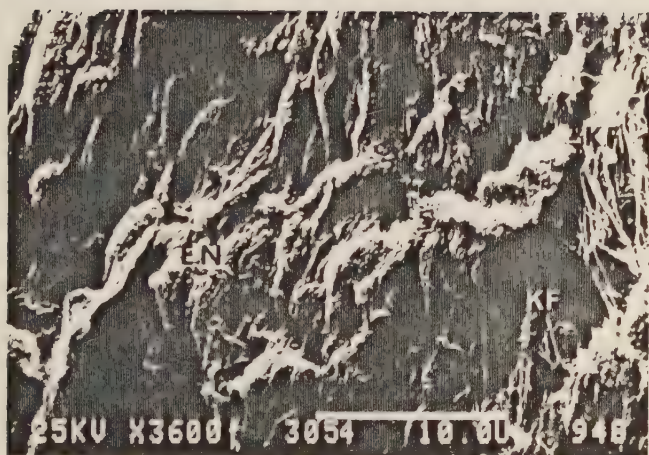


Abb. 23: *D. thoracicus*-Segment nach 30-tägiger Lagerung in NaCl-Lösung bei +4°C im REM-Bild. Vergr.: 3.600-fach.

3.3. Lagerung und Transplantation von isogenen Ductus thoracicus-Segmenten (Gruppe II)

Die Untersuchungen zur Lagerung von Lymphgefäßen hatten gezeigt, daß mit Ausdehnung der Lagerungsdauer auch die Strukturveränderung in den Gefäßwänden zunimmt. Da hierbei aber der morphologische Aufbau der Gefäßsegmente größtenteils erhalten blieb, wurden nun Abschnitte des Ductus thoracicus nach einer Lagerung als isogene Transplantate verwendet. Wie in den Vorversuchen wurde 0,9%ige NaCl-Lösung als Aufbewahrungsmedium verwendet; auf die Ringer'sche - Lösung wurde verzichtet, da die Lagerungsversuche keinen Unterschied zwischen den beiden Medien ergeben hatten. Nach Revisionsoperationen wurde der Einfluß der Lagerung auf die Durchgängigkeit und den strukturellen Aufbau der Transplantate untersucht.

3.3.1. Transplantation nach kurzfristiger Lagerung

Gemäß den Modalitäten des Lagerungsmodells wurden insgesamt zehn Transplantationen durchgeführt. Die dabei verwendeten Transplantate waren vor der Operation in 0,9%iger NaCl-Lösung bei einer Temperatur von entweder +4°C oder +20°C gelagert worden. Die Dauer der Lagerung lag zwischen einer halben Stunde und zehn Stunden. Die Revisionsoperation mit nachfolgenden Untersuchungen wurde bei allen Tieren zwanzig Tage nach dem Ersteingriff durchgeführt (Tab. 7) .

Tabelle 7: Transplantation von Lymphgefäßsegmenten nach kurzfristiger Lagerung

Lagerungsmedium:		NaCl 0,9%	NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur:		+4°C	+20°C
n	n		
Lagerungszeit: 1/2 h		1	1
	1 h	1	1
	2 h	1	1
	6 h	1	1
	10 h	1	1

Revisionsoperation: 20 Tage nach Primäreingriff

Die gelagerten Lymphgefäßsegmente ließen sich bei der Transplantation in Hinblick auf die operationstechnische Handhabung wie ungelagerte Gefäße verwenden. Insbesondere zeigten sie beim Fassen der Haltefäden und beim Fertigen der Anastomosennähte keine vermehrte Zerreißbarkeit. Auch der Gewebswiderstand der Gefäßwand beim Einstechen der Mikronadel ließ keinen Unterschied erkennen.

3.3.1.1. Inspektion

Bei den Revisionsoperationen konnten bei keinem der Tiere Krankheitszeichen vorgefunden werden. Alle Transplantate wurden aufgefunden und ließen sich darstellen. Die Präparation war dadurch behindert, daß sich Granulationsgewebe um die Transplantate gebildet hatte. Unter dem Operationsmikroskop ließen sich jedoch keine Schäden wie Nekrosen, Aneurismen oder Indurationen feststellen. Die Anastomosengebiete, die durch die resorbierbaren und nichtresorbierbaren Fäden leicht identifiziert werden konnten, zeigten bis auf einen Fall keine Leckstellen. Bei allen Präparaten war offensichtlich der gesamte Ductus thoracicus mit Lymphflüssigkeit

gefüllt. Dies konnte an einem ohne Unterbrechung oder Stauung von distal nach proximal durch die Gefäßwände schimmernden, milchig weißen Strang beobachtet werden.

3.3.1.2. Farbstoffinjektion

Bei der Injektion von Patentblau-Lösung in die Cysterna chyli zeigten alle Transplantate einen ungehinderten intraluminalen Abstrom nach cranial (Abb. 24,25).



Abb. 24: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 20°C, 2 h) nach Patentblau-Injektion.



Abb. 25: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 20°C, 2 h) nach Patentblau- Injektion .

Damit waren alle Transplantate klinisch als durchgängig zu beurteilen. Mittels Erhöhung des Injektionsdruckes bei der Patentblaugabe ließ sich durch die Aufdehnung der Gefäßwände die erhaltene Elastizität demonstrieren, das Transplantatlumen stellte sich in ganzer Breite dar. Bei dieser Druckbelastung zeigte sich an der distalen Anastomose eines Tieres ein kleines Leck, das unter normalen Druckbedingungen nicht in Erscheinung getreten war (Transplantat 10 Std. in NaCl 20°C gelagert). Ansonsten wies dieses Transplantat keine Besonderheiten auf.

3.3.1.3 Lymphographie

Bei fünf Tieren wurde zusätzlich eine Lymphographie durchgeführt. Dabei ließ sich der Ductus thoracicus von der Cysterna chyli bis zu seiner Mündung in den Venenwinkel ohne Ausnahme mit dem Kontrastmittel darstellen. Kontrastmittelausschnitte, Stenosen oder andere Passagehindernisse fielen nicht auf (Abb. 26). Demnach war eine Durchgängigkeit aller geprüften Transplantate vorhanden.

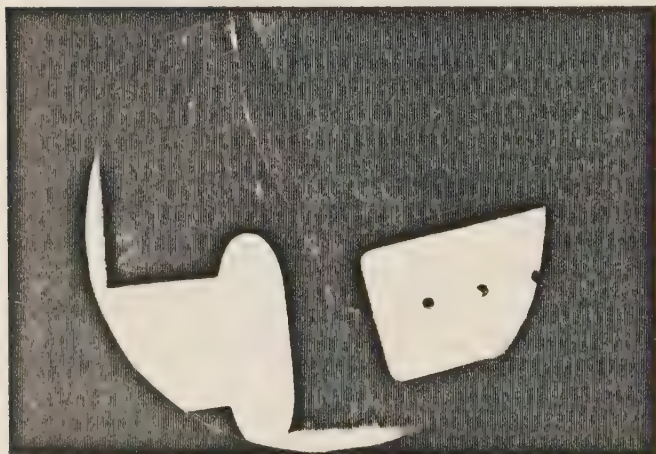


Abb. 26: Lymphographie: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 1/2 h). Transplantatbereich am Markierungspfeil.

3.3.1.4 Elektronenmikroskopie

Nachdem alle Präparate bei Inspektion, Farbstoffinjektion und Lymphographie trotz unterschiedlicher Lagerungsmodalitäten gleichartiges Verhalten gezeigt hatten, sollte die elektronenmikroskopische Untersuchung ein differenziertes Bild der Vorgänge in der Transplantatwand bieten. Zunächst konnte bei allen Transplantaten, die zwischen 30 Minuten und 10 Stunden in 0,9%iger NaCl-Lösung bei +4°C oder +20°C gelagert worden waren, eine Durchgängigkeit des Lumens nachgewiesen werden. Thrombosen oder Stenosen wurden nicht beobachtet. Mit der raster- und transmissionselektronenmikroskopischen Technik ließ sich zeigen, daß am zwanzigsten Tag nach Transplantation die Lumenauskleidung der Transplantate in sämtlichen Fällen von einem weitgehend geschlossenen Epithelbelag gebildet wurde. Anstelle dieser Endothelabdeckung konnte partiell auch ein Fibrinüberzug festgestellt werden.

Im einzelnen ergab die Lagerung über eine halbe und eine Stunde bei +20°C keinen wesentlichen Unterschied zu der bei +4°C in NaCl-Lösung (27a, 27b, 28a, 28b).

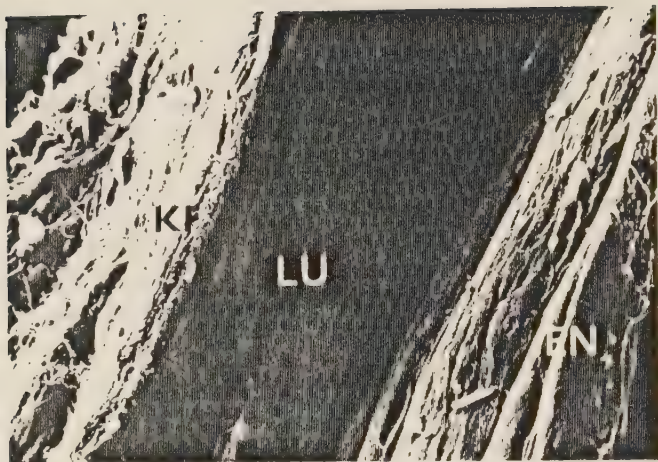


Abb. 27a: *D. thoracicus*-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 1/2 h). REM-Bild, Vergr.: 720-fach.



Abb. 27b: *D. thoracicus*-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 1/2 h). TEM-Bild, Vergr.: 15.000-fach



Abb. 28a: *D. thoracicus*-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 20°C, 1/2 h). REM-Bild, Vergr.: 2.600-fach .

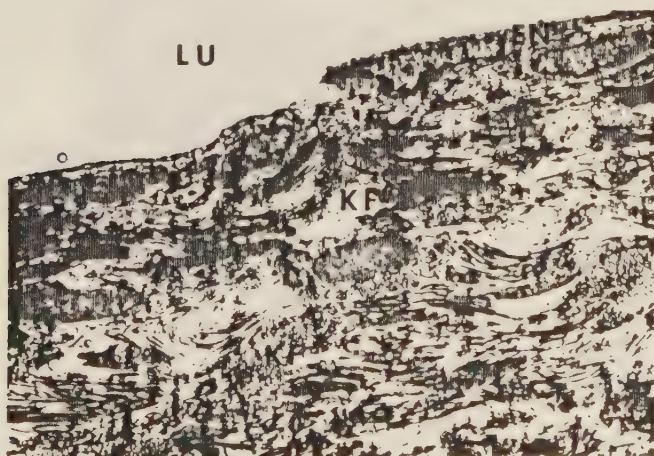


Abb. 28b: *D. thoracicus*-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 20°C, 1/2 h). TEM-Bild, Vergr.: 3.600-fach .

Mit fortschreitender Lagerdauer von 2-6 Stunden jedoch bewirkte die Aufbewahrung bei $+4^{\circ}\text{C}$, daß der Aufbau des Transplantates mehr dem normalen Gefäßwandbild entsprach als nach $+20^{\circ}\text{C}$ Lagerung. Die Struktur der subendothelialen Kollagenfasern war bei Anwendung der niedrigeren Temperatur dichter, die Anordnung der Quer- und Längsbündel regelmäßiger (Abb. 29a, 29b, 30).

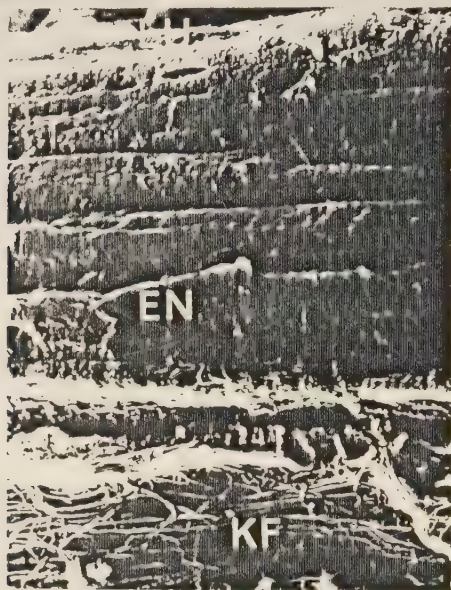


Abb. 29a: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C , 2 h). REM-Bild, Vergr.: 3.200-fach.

LU



Abb. 29b: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 2 h). TEM-Bild, Vergr.: 13.500-fach .

LU



Abb. 30: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 20°C, 2 h). TEM-Bild, Vergr.: 7.500-fach .

Noch deutlicher traten die geringeren Veränderungen durch die +4°C-Lagerung nach zehnstündiger Lagerungsdauer in Erscheinung (Abb. 31a, 31b, 32a, 32b).

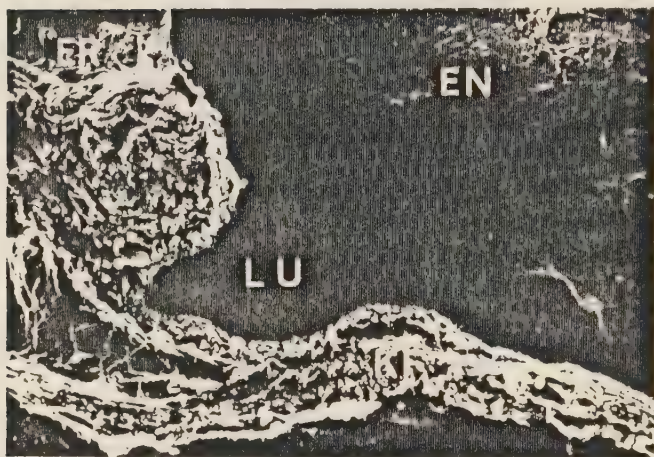


Abb. 31a: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 10 h). REM-Bild, Vergr.: 480-fach .

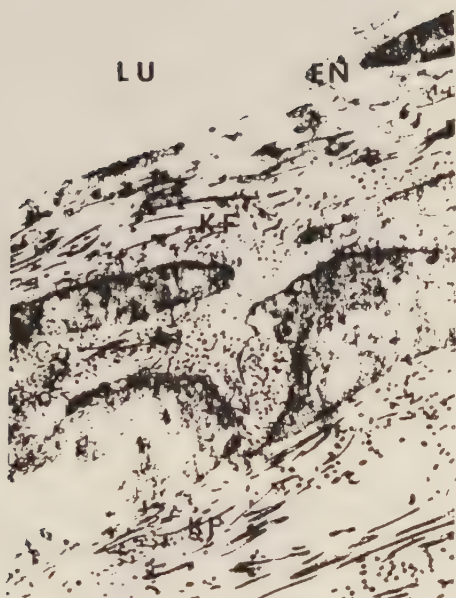


Abb. 31b: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 10 h). TEM-Bild, Vergr.: 15.000-fach.



Abb. 32a: *D. thoracicus*-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 20°C, 10 h). REM-Bild, Vergr.: 2.000-fach.



Abb. 32b: *D. thoracicus*-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 20°C, 10 h). TEM-Bild, Vergr.: 10.500-fach.

Da mit diesen Versuchen festgestellt werden konnte, daß die gelagerten Transplantate die Funktion des Lymphabflusses gewährleisten, wurden die Versuche mit ausgedehnten Lagerungszeiten durchgeführt. Als die Temperatur, die sich für längere Aufbewahrungszeiten am geeignetsten erwiesen hatte, wurde +4°C gewählt.

3.3.2. Transplantation nach mittelfristiger Lagerung

Zehn Ductus thoracicus-Segmente wurden über einen Zeitraum von acht Tagen in 0,9%iger NaCl-Lösung bei +4°C aufbewahrt und dann isogen transplantiert. Die Revisionsoperationen fanden in gestaffelten Zeitabständen zwischen zwei Tagen und vierzig Tagen nach dem Ersteingriff statt (Tab. 8).

Tabelle 8: Transplantation von Lymphgefäßsegmenten nach mittelfristiger Lagerung

Lagerungsmedium:	NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur:	+4°C
Lagerungszeit:	8 Tage
Anzahl der Transplantationen	n: 10
Revisionsoperationen:	2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 30, 40 Tage nach Primäreingriff, jeweils n = 1

Auch die über diesen Zeitraum gelagerten Gefäßsegmente ließen sich operationstechnisch wie normale Lymphgefäße handhaben. Es zeigte sich keine größere Verletzlichkeit der Transplantatwände.

3.3.2.1. Inspektion

Keines der Tiere wies bei der Revisionsoperation Krankheitszeichen auf. Alle Transplantatregionen wurden identifiziert und freipräpariert. Es ließen sich in keinem Fall äußere Transplantatschäden erkennen; Nekrosen, Nahtdehiszenzen und Stenosen waren nicht sichtbar. Mit zunehmendem zeitlichen Abstand zum Primäreingriff war um die Transplantate vermehrt Granulationsgewebe entstanden, das die saubere Präparation besonders bei den Revisionsoperationen am 8., 10. und 12. Tag erschwerte. Dreißig bzw. vierzig Tage nach Transplantation waren die resorbierbaren Fäden nicht mehr auffindbar, die Anastomosen erschienen übergangslos und konnten nur an den Markierungsfäden erkannt werden. Der Ductus thoracicus stellte sich immer in ganzer Länge mit Lymphflüssigkeit gefüllt dar, so daß das äußere Erscheinungsbild in jedem Fall gleich war.

3.3.2.2. Farbstoffinjektion

Das in die Cysterna chyli oder distal von ihr injizierte Patentblau strömte in allen Fällen ungehindert nach proximal ab, was als Zeichen der Durchgängigkeit gewertet wurde. Ein erhöhter Injektionsdruck führte in ganzer Breite zur Anfärbung der freien Lumina. In bezug auf die Gefäßwandelastizität ließ sich zwischen den Transplantaten, die schon wenige Tage nach dem Primäreingriff untersucht wurden, und den erst später geprüften kein Unterschied beobachten. Am Ende eines der Ersteingriffe war ein kleines Leck an einer distalen Anastomose bemerkt worden. Obwohl diese Undichtigkeit belassen worden war, konnte bei der Revisionsoperation 12 Tage nach dem Ersteingriff kein Austreten des Farbstoffs beobachtet werden (Abb. 33).



Abb. 33: D. thoracicus-Transplantat 12 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). Patentblau -Injektion .

3.3.2.3. Lymphographie

Vier Tiere wurden im Anschluß an die Patentblau-Injektion röntgenologisch untersucht. Bei allen ließ sich das Kontrastmittel von der Cysterna chyli bis zum Eintritt in den Venenwinkel verfolgen, ohne daß starke Stenosierungen, Passagehindernisse oder Aneurismen auffielen. In keinem Fall wurde ein Kontrastmittelaustritt sichtbar. Somit konnte die Durchgängigkeit bestätigt werden (Abb. 34).



Abb. 34: D. thoracicus-Transplantat 16 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). Lymphographie.

3.3.2.4. Elektronenmikroskopie

Auch die elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten, daß bei allen Transplantaten ein durchgängiges Lumen bestand. Durch das gestaffelte Intervall zwischen Transplantationszeitpunkt und Revisionsoperationen war es möglich, die Umbauvorgänge in der Gefäßwand in verschiedenen Phasen von zwei bis vierzig Tagen zu beurteilen. In sämtlichen untersuchten Transplantatproben konnte eine geschlossene Auskleidung des Lumens festgestellt werden. Diese wurde insbesondere in den ersten Tagen nach Primäreingriff von Fibrinauflagerungen gebildet, die in einem lockeren Verband kollagener Fibrillen die innerste Schicht der Gefäßwand ersetzten (Abb. 35a, 35b, 36).



Abb. 35a: *D. thoracicus*-Transplantat 2 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). Transplantatgrenze am oberen Bildrand (↓). REM-Bild, Vergr.: 120-fach .

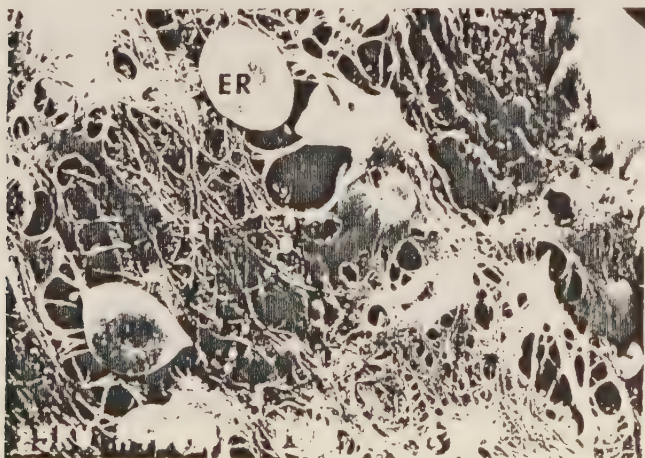


Abb. 35b: *D. thoracicus*-Transplantat 2 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). REM-Bild, Vergr.: 4000-fach .

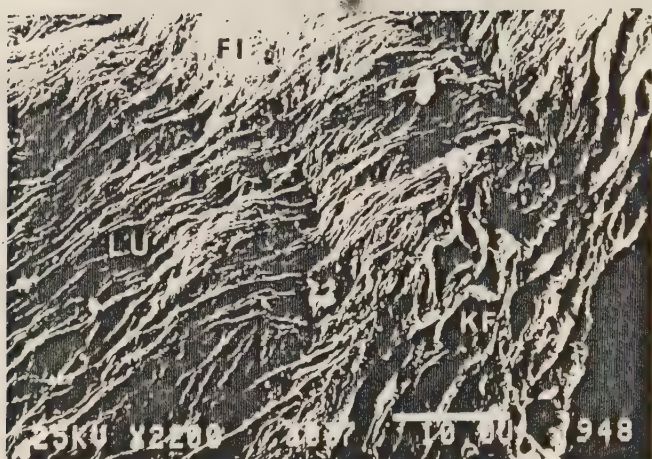


Abb. 36: D. thoracicus-Transplantat 4 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). REM-Bild, Vergr.: 2.200-fach.

Von dem bereits vorher abgelösten Endothel war nichts mehr vorhanden, in die dadurch entstehenden freien Räume waren Rundzellen in Form von Lymphozyten und Plasmazellen infiltriert.-Acht Tage nach der Transplantation hatten vermehrte Umbauvorgänge begonnen. Das Fibrin wurde langsam wieder durch einen geschlossenen Epithelbelag (Neointima) ersetzt (Abb. 37 a, 37 b).

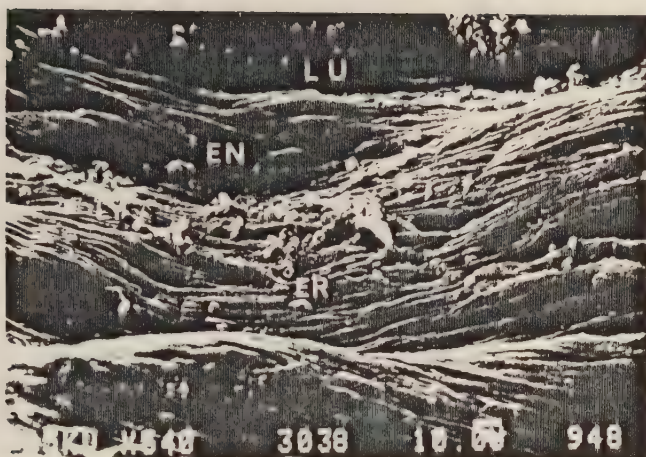


Abb. 37a: *D. thoracicus*-Transplantat 8 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). REM-Bild, Vergr.: 540-fach.



Abb. 37b: *D. thoracicus*-Transplantat 8 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). REM-Bild, Vergr.: 220-fach.

Am zehnten Tag p.op. erschien das Kollagenfasergeflecht wieder dichter (Abb. 38 a, 38 b).

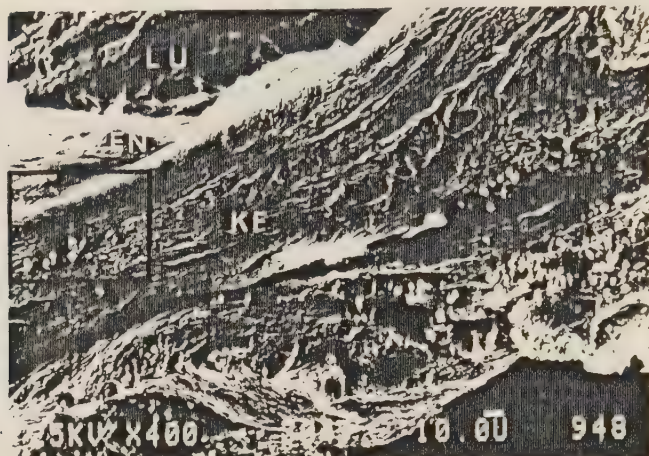


Abb. 38a: D. thoracicus-Transplantat 10 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). REM-Bild, Vergr.: 400-fach.



Abb. 38b: D. thoracicus-Transplantat 10 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). REM-Bild, Ausschnitt aus Abb. 38a, Vergr.: 2.000-fach.

In der Folgezeit wurde bis zum zwanzigsten Tag subendothelial ein geordnetes Kollagenfasergeflecht aufgebaut, das aus dicht aneinanderliegenden Quer- und Längsbündeln bestand. Periphere Wandabschnitte wurden durch Makrophagen organisiert (Abb. 39a, 39b, 40, 41a, 41b).



Abb. 39a: D. thoracicus-Transplantat 12 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). TEM-Bild, Vergr.: 7.500-fach.

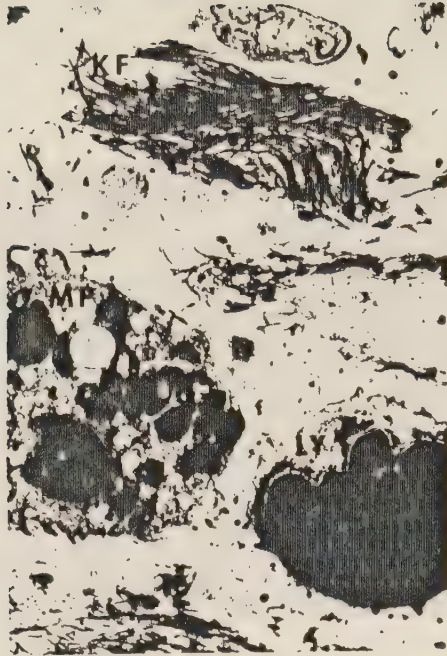


Abb. 39b: D. thoracicus-Transplantat 12 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). TEM-Bild, Vergr.: 7.500-fach .



Abb. 40: D. thoracicus-Transplantat 16 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). TEM-Bild, Vergr.: 12.000-fach .

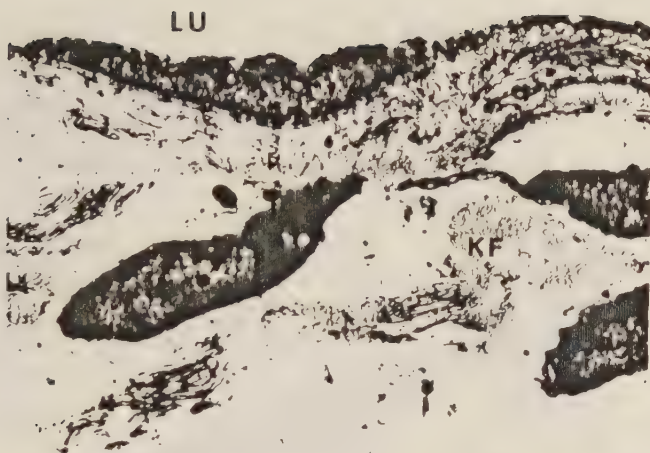


Abb. 41a: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). TEM-Bild, Vergr.: 6.000-fach.

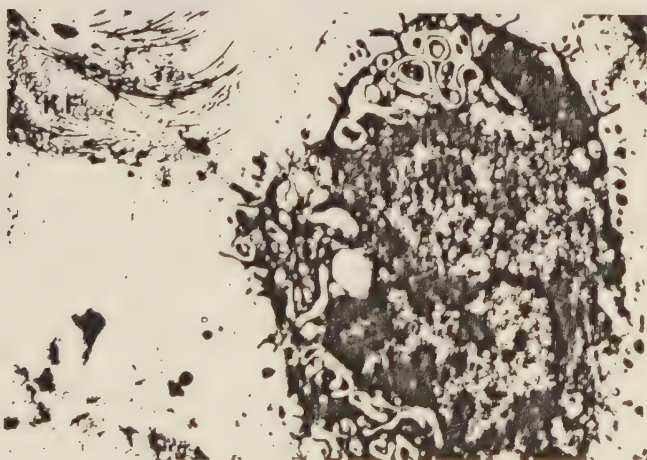


Abb. 41b: D. thoracicus-Transplantat 20 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). TEM-Bild, Vergr.: 7.500-fach.

Nach dreißig bzw. vierzig Tagen war das Endothel wieder lückenlos nachweisbar, erstmals ließen sich einige glatte Muskelzellen subendothelial beobachten (Abb. 42, 43). Als stabilisierende Struktur für die neue Intima dienten wiederum die subendothelialen kollagenen Fasern.

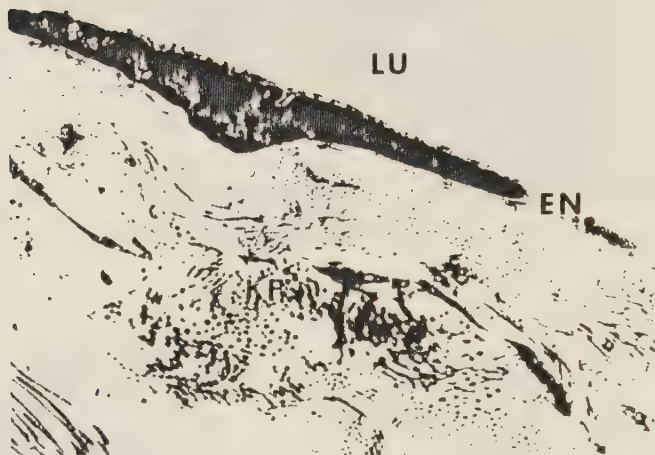


Abb. 42: D. thoracicus-Transplantat 30 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). TEM-Bild, Vergr.: 6.000-fach.

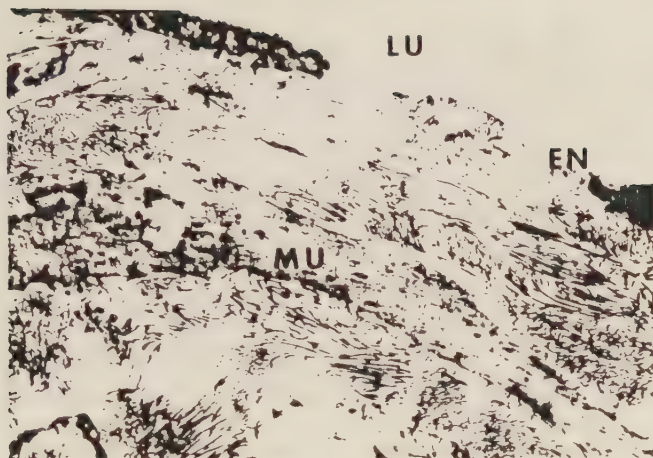


Abb. 43: D. thoracicus-Transplantat 40 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 8 Tage). TEM-Bild, Vergr.: 6.000-fach.

Insgesamt wurden also stufenweise Regenerationsvorgänge des Endothels mit dem Aufbau einer neuen Intima beobachtet, während tiefere Wandschichten nahezu erhalten blieben. Die Funktion des Lymphabflusses war über den gesamten Zeitraum gewährleistet.

3.3.3. Transplantation nach langfristiger Lagerung

Die Möglichkeit, Lymphgefäßsegmente auch noch nach einem Lagerungszeitraum von dreißig Tagen funktionserhaltend verwenden zu können, wurde an drei isogenen Transplantationen geprüft. Als Lagerungsmedium diente wiederum 0,9%ige NaCl-Lösung, die Lagerungstemperatur betrug +4°C. Der Zeitpunkt der Revisionsoperation lag dreißig Tage nach dem Primäreingriff (Tab. 9).

Tabelle 9: Transplantation von Lymphgefäßsegmenten nach langfristiger Lagerung

Lagerungsmedium:	NaCl 0,9%
Lagerungstemperatur:	+4°C
Lagerungszeit:	30 Tage
Anzahl der Trans-	
plantationen n:	3
Revisionsoperationen:	30 Tage nach Primäreingriff

Die Transplantationen konnten ohne besondere Berücksichtigung etwaiger Gefäßwandinstabilitäten der über die lange Dauer von dreißig Tagen gelagerten Transplantate durchgeführt werden.

3.3.3.1. Inspektion

Die Revisionsoperationen wurden an den weder Lymphödenen noch Lymphfisteln aufweisenden Tieren nach dreißig Tagen durchgeführt. Die Transplantate konnten allesamt aufgefunden werden. Die Freipräparation wurde teilweise durch Granulationsgewebe erschwert, das besonders im Bereich der Nahtstellen mit der Umgebung verwachsen war. Das resorbierbare Nahtmaterial war nicht mehr sichtbar, die Anastomosengrenzen wirkten scheinbar übergangslos. Bei keinem Transplantat waren unter dem Operationsmikroskop Schäden erkennbar. Der gleichmäßige Füllungszustand des Ductus thoracicus im Abdominalbereich ließ auf einen funktionierenden Abfluß der Lymphe schließen.

3.3.3.2. Farbstoffinjektion

Durch Darstellung der Transplantate mit Farbstoff ließ sich in allen Fällen ein durchgängiges Lumen demonstrieren. Die Gefäße zeigten eine Anfärbung bis zu ganzer Breite; in den Anastomosenbereichen existierten keinerlei Passagehindernisse, so daß der Abstrom des Farbstoffes ohne Verzögerung erfolgte. Ein bei einer der Transplantationen an der proximalen Anastomose belassenes Minimalleck konnte auch bei stärkerem Injektionsdruck nicht mehr aufgefunden werden. Die Elastizität der Gefäßwände erschien ohne Einschränkung.

3.3.3.3. Lymphographie

Die lymphographische Darstellung des Ductus thoracicus Verlaufes kam nur bei einem Tier zur Anwendung. Das Kontrastmittel füllte den Lymphgefäßstrang von der Cysterna chyli bis zum Venenwinkel; Aneurismen, Stenosen oder Leckstellen wurden dabei nicht sichtbar. Somit konnte die Durchgängigkeit bestätigt werden.

3.3.3.4. Elektronenmikroskopie

Alle Präparate zeigten unter dem Elektronenmikroskop freie, durchgängige Lumina, die auf ganzer Länge keine Stenosen oder Thrombosen aufwiesen.

Die innere Wandauskleidung setzte sich aus einem fast geschlossenen Belag von Endothelzellen zusammen, der auch das Gebiet der Nahtstellen überdeckte.

Im subendothelialen Bereich fand sich ein leicht aufgelockertes Gerüst von Kollagenfaserbündeln. Vereinzelt waren in die freien Räume Lymphozyten und Plasmazellen gewandert. In den peripheren Wandschichten wurden Makrophagen und die Einsprossung von Kapillaren beobachtet (Abb. 44, 45).

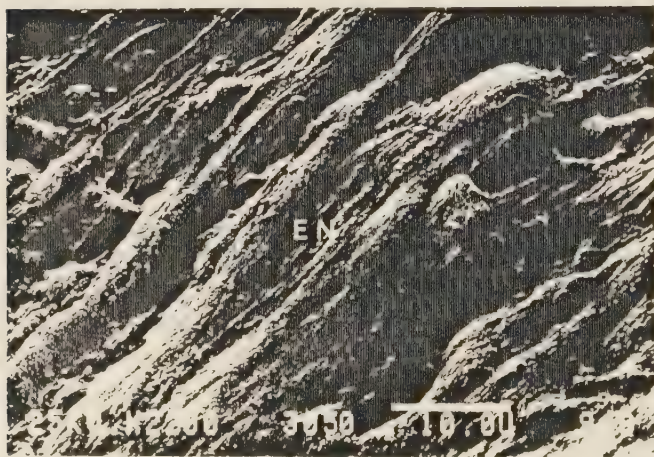


Abb. 44: D. thoracicus-Transplantat 30 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 30 Tage). REM-Bild, Vergr.: 2.200-fach .



Abb. 45: D. thoracicus-Transplantat 30 Tage p.op. (Lagerung in NaCl-Lösung, 4°C, 30 Tage). REM-Bild, Vergr.: 540-fach.

Die langfristig gelagerten Transplantate konnten somit bei erhaltenem Lymphabfluß regeneriert werden. Das Verfahren der Organisation der Gefäßwand zeigte dabei keine Abweichungen von den Versuchen mit kurzfristig und mittelfristig gelagerten Transplantaten.

3.3.3.5 Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse der Lagerungs-Transplantationsversuche (Gruppe II)

Tabelle 10: Transplantation nach kurzfristiger Lagerung

Revisionsoperation: 20. Tag p.op.

Lagerungsmedium: NaCl 0,9%

Lagerungstemperatur: +4°C (n = je 1)

Lagerungszeit	1/2 h	1 h	2 h	6 h	10 h
<u>Durchgängigkeit:</u>					
Inspektion	+	+	+	+	+
Farb.-Injektion	+	+	+	+	+
Lymphographie	+			+	+
E.-Mikroskopie:	+	+	+	+	+
Endothelbelag	vorh.	vorh.	vorh.	vorh.	vorh.
Transplantat- wandumbau- vorgänge	minimal	minimal	gering	gering	gering

Lagerungstemperatur: +20°C (n = je 1)

Lagerungszeit	1/2 h	1 h	2 h	6 h	10 h
<u>Durchgängigkeit:</u>					
Inspektion	+	+	+	+	+
Farb.-Injektion	+	+	+	+	+
Lymphographie			+	+	
E.-Mikroskopie:	+	+	+	+	+
Endothelbelag	vorh.	vorh.	vorh.	vorh.	vorh.
Transplantat- wandumbau- vorgänge	minimal	minimal	mäßig zunehmend	mäßig	mäßig

Tabelle 11: Transplantation nach mittelfristiger Lagerung

Lagerungsmedium: NaCl 0,9%

Lagerungstemperatur: +4°C

Lagerungszeit: 8 Tage

Revisionsoperation										
Tage p.op.	2	4	6	8	10	12	16	20	30	40
<u>Durchgängigkeit:</u>										
Inspektion	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Farb.-Injektion	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lymphographie	+			+			+			+
E.-Mikroskopie:	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Endothelbelag geschlossene Lumenauskleidung bestehend aus:										
	Fibrinauflagerungen kollagene Fibrillen			Neointimaaufbau zunehmende Neoendo- thelialisierung				lückentl. Endothel- zellschicht		

Tabelle 12: Transplantation nach langfristiger Lagerung

Lagerungsmedium: NaCl 0,9%

Lagerungstemperatur: +4°C

Lagerungszeit: 30 Tage

Revisionsoperation			
Tage p.op.	30	30	30
<u>Durchgängigkeit:</u>			
Inspektion	+	+	+
Farb.-Injektion	+	+	+
Lymphographie		+	
E.-Mikroskopie:	+	+	+
Endothelbelag	lückenlose Intima		

4. DISKUSSION

4.1. Die Mikrochirurgie der Lymphgefäße

Die Aufrechterhaltung des normalen kolloidosmotischen Druckes im Gewebe wird durch ein spezielles Gefäßsystem erfüllt: die Lymphgefäße sammeln im Interstitium der Extremitäten Proteine und Wasser und transportieren diese Stoffe wieder zurück in den venösen Schenkel des Blutkreislaufs (20,36,39,42). Ist die Transportkapazität im Lymphgefäßsystem vermindert und wird die lymphpflichtige Last nicht abtransportiert, kommt es zur Ansammlung von Plasmaproteinen und Flüssigkeit im Interstitium. Diese kann zusätzlich durch einen erhöhten Kapillardruck im Rahmen einer venösen Stauung vermehrt werden. Es entsteht das kombinierte Ödem (79). Der Kompensationsmechanismus des Organismus in Form von Ausbildung präformierter lympho-lymphatischer Abflußwege oder lymphovenösen Anastomosen reicht meist nicht als suffiziente Abflußmöglichkeit für die Lymphflüssigkeit aus (38,52). Die Mikrochirurgie der Lymphgefäße hat das Ziel, den verminderten Gesamtquerschnitt der Strombahnen des Lymphgefäßbettes wieder zu vergrößern und somit die Transportkapazität zu steigern. Das bedeutet eine Wiederherstellung des physiologischen Lymphabstromes.

Verschiedene Möglichkeiten einer Ableitung der Lymphe durch Gefäße wurden hierzu in Experiment und Klinik angewandt. In Kenntnis der spontanen Bildung von lymphovenösen Fisteln entwickelte sich die Methode der lymphovenösen oder lymphonodovenösen Anastomosenoperationen (2). In Anlehnung an die bekannte physiologische Kommunikation zwischen Lymphgefäß- und zentralem Venensystem stellte man operativ End-zu-End- oder End-zu-Seit-Anastomosen zwischen Lymphgefäßen und Venen her. Das bedeutete, daß der Abtransport der Lymphflüssigkeit nun von einem anderen Gefäßsystem

besorgt werden sollte. Dieses Verfahren wird schon seit 1962 experimentell von verschiedenen Arbeitsgruppen praktiziert. Jacobson (58,59) gehörte zu den ersten, die experimentelle lymphovenöse Anastomosen herstellten. 1971 gelang es ihm, im Kaninchenmodell 40 End-zu-End-Anastomosen zwischen Lymphkollektoren und Seitenästen der V. femoralis zu bilden. Nur zwei Anastomosen waren dabei durchgängig.

Mit einer temporären Polyäthylen-Schienung fertigten Laine und Howard tierexperimentelle End-zu-Seit-Anastomosen, wobei Lymphgefäße mit der V. femoralis verbunden wurden. Hierbei konnte in 20-40 % der Fälle ein Lymphabfluß nachgewiesen werden (65).

Nach ähnlicher Methode arbeitete 1969 Yamada, der in einem Kaninchenmodell mit Hilfe von Mikrokathetern lymphovenöse End-zu-End-Anastomosen herstellte. Er erreichte damit eine postoperative Durchgängigkeitsrate von 90% nach einer Woche und noch 44,4% nach sechs Monaten (100).

Eine andere Technik der lymphovenösen End-zu-Seit-Anastomose wurde 1973 von Degni (32) angewendet. Mit nur einer Naht fixierte er das Lymphgefäß an der Venenwand, nachdem er es mittels einer mit einer Rille versehenen speziellen Führungsnadel in der Vene plaziert hatte. Er stellte fest, daß das Maß der Reduktion des Extremitätenumfangs der Zahl der Anastomosen proportional war (33).

O'Brien stellte mit seiner Arbeitsgruppe zur Therapie des Lymphödems lymphovenöse Anastomosen zwischen Lymphkollektoren und kleinen Ästen der Vena femoralis von Hunden her. Hierbei wurden die Gefäße sowohl Seit-zu-End wie End-zu-End anastomosiert (47,73,74). Von 39 durchgeführten Verbindungen konnte eine Woche nach Operation eine Durchgängigkeit von 74%, nach 6-12 Wochen von ca. 66% festgestellt werden. Eine histologische Untersuchung von 30 Anastomosen bestätigte die Durchgängigkeit in 16 Fällen (= 53,3%). Ebenso berichte-

te Pandolfo von guten Resultaten nach Anastomosierung von Lymphgefäßen mit Femoralvenen bei 10 Hunden (76).

Schon 1966 konnten Nielubowicz und Olszewski einzelne Erfolge bei der Therapie von sekundären Lymphödemen durch Anlage lymphovenöser Anastomosen in der Klinik verzeichnen (72). Erfolgreiche experimentelle Anastomosenoperationen an Hunden waren dem vorausgegangen. Petrovsky behandelte sieben Patienten mit sekundärem Lymphödem der unteren Extremität mit direkter lymphovenöser Anastomosierung (80), Bolund berichtete von 5 erfolgreich therapierten Patienten (17).

Clodius, der zunächst eine Lymphödemtherapie durch freie Omentumtransplantation mit gleichzeitiger Exoneurolyse verfolgt hatte (95), wendete sich 1977 ebenfalls der Methode der lymphovenösen Anastomosierung zu (24). Mit derselben Therapie behandelten Puckett und Mitarbeiter Hunde mit chronisch obstruktivem Lymphödem (81). Die Durchgängigkeitsrate von 21 lymphovenösen Anastomosen betrug nach 7 Tagen 100%. Nach 14 Tagen jedoch waren 79% der Anastomosen und nach 21 Tagen alle Anastomosen verschlossen. War das Lymphödem zu Beginn um 32% zurückgegangen, kehrte es nach Verschluß der Gefäße in ganzer Ausprägung zurück.

Der Grund für solche Ergebnisse in Experiment und Klinik liegt im unterschiedlichen Druckverhalten zwischen venösem und lymphatischem Gefäßsystem. Ein kontinuierlicher Abfluß der Lymphe in das venöse System ist nur gewährleistet, wenn der intralymphatische Druck höher ist als der peripher-venöse Druck. In Ruhe herrschen jedoch im Gebiet eines Lymphödems umgekehrte Verhältnisse vor (100). Dazu trägt auch bei, daß abweichend von physiologischen Bedingungen hier ein ausreichender äußerer Gewebedruck auf die Lymphgefäßbahn fehlt. Außerdem werden die Klappen der dadurch dilatierten Lymphgefäße mit zunehmender Dauer des Ödems insuffizient. Werden derartig vorgeschädigte Lymphbahnen mit Venen anastomosiert, kann sich ein retrograder venöser

Blutfluß entwickeln. Der in den ersten Tagen nach Anastomosierung zu beobachtende Erfolg beruht auf der hohen lymphatischen Flowrate durch den neu geschaffenen Abfluß bei noch ausgeprägtem Ödem. In der Folgezeit nimmt dann das Ödem ab, der Flow geht stark zurück und es besteht das Risiko des Verschlusses der Lymphgefäßanastomosen durch Fibrose oder Thrombose. Es liegt ein *circulus vitiosus* vor (81,82).

War man lange Zeit der Ansicht, lympho-lymphatische Anastomosen seien technisch nicht durchführbar (30), erfolgten etwa 1978 erste Berichte über selektive Manipulationen am Lymphgefäßsystem. Unter Verwendung feinsten Nahtmaterials (Nylon 10-0, 50 µ-Nadel) und entsprechenden Mikroinstrumentariums behandelte Cunningham experimentell erzeugte Lymphödeme an Kaninchenohren. Hierzu überbrückte er Defekte in Lymphgefäßen durch Interposition von Lymphgefäßsegmenten und führte außerdem lympho-lymphatische Anastomosen durch (29).

Shafiroff und O'Brien veröffentlichten 1979 ihre Ergebnisse über 38 lympho-lymphatische End-zu-End Anastomosen im Hundemodell (88). Nachuntersuchungen wurden nach einer Stunde bis zu 6 Wochen durchgeführt. Nur 26 Anastomosen ließen sich in den Revisionsoperationen wieder auffinden, die übrigen 12 waren wegen starker Narbenbildung im Operationsgebiet nicht mehr identifizierbar. In 7 Fällen (= 27%) konnte eine Durchgängigkeit der Anastomose festgestellt werden. Elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben, daß bereits nach 2 Wochen eine vollständige Reendothelisierung der funktionierenden Anastomosen stattgefunden hatte. Als Ursache für die Verschlüsse wurden zumeist technische Fehler der Naht und Thrombosen von verletzten *Vasa vasorum* verantwortlich gemacht.

Kaye, Smith und Acland versuchten, die Anastomosierungstechnik zu verbessern. An femoralen Lymphbahnen

von Hunden wurden in einer ersten Versuchsgruppe spannungsfreie End-zu-End Anastomosen gefertigt, in einer zweiten Gruppe wurden die Lymphgefäße unter Spannung reanastomosiert. Nach einem Zeitintervall von 12 Wochen betrug bei der Reexploration die Durchgängigkeitsrate 25% bzw. 22%. Jede Anastomose bestand aus 5-8 Einzelnähten, die mit 11-0 Nylon und 50 µ-Nadel geknüpft worden waren (62).

Auch Mandl verfolgte das Prinzip der Wiederherstellung des gestörten Lymphabflusses auf direktem lympho-lymphatischen Weg. Zur Überbrückung von experimentell erzeugten Defekten in der Femorallymphbahn von Hunden setzte er isogene Arterien-, feinkalibrige Venen- oder Lymphgefäßinterponate ein. Während alle Arterien bei der Nachuntersuchung nach ca. 7 Wochen durch Granulationsgewebe verschlossen waren, ließ sich mit Lymphgefäß- und Veneninterponaten eine etwa gleich gute, hohe Durchgängigkeitsrate erreichen. Da die Ernährung der Gefäßwand als über den Erfolg mitentscheidender Faktor bei Verwendung eines Lymphgefäßinterponates gesicherter erschien, empfahl er, diesem im klinischen Einsatz den Vorzug zu geben (67).

Umfangreiche Experimente zur Therapie des Lymphödems mittels lympho-lymphatischer Anastomosierungstechnik führt Baumeister seit 1979 durch (7). Am abdominalen Ductus thoracicus der Ratte fertigte er isogene spannungsfreie End-zu-End Anastomosen an, die eine Durchgängigkeit von 90% nach einer Beobachtungszeit von 9 Wochen aufwiesen. Auch das experimentell erzeugte chronische lymphostatische Ödem am Hinterlauf von Hunden wurde mit der Transplantation von Lymphgefäßkollektoren behandelt. Damit erreichte er eine Reduktion des anfangs um 50% angestiegenen Extremitätenumfangs auf 10% nach 7 Wochen (12). Durch isogene Lymphgefäßtransplantation in der Klinik konnte bei 55 Patienten mit sekundärem Lymphödem bis Dezember 1986 eine Umfangsreduktion der abhängigen Extremität von bis zu 60% festgestellt

werden. Der Beobachtungszeitraum liegt jetzt bei längstens 5 1/2 Jahren.

Eine Erweiterung dieser Behandlungsmethode durch die Verwendung allogener Lymphgefäßtransplantate wurde von Gabka im Rattenmodell geprüft. Er stellte fest, daß in der anastomosierten Lymphbahn in einem Beobachtungszeitraum von 80 Tagen kein Funktionsverlust auftritt (44).

4.2. Die isogene Ductus thoracicus-Transplantation

Die Durchgängigkeitsrate von 100% bei den für die vorliegende Arbeit erstellten 10 isogenen Ductus thoracicus-Transplantationen knüpft an die Ergebnisse von Mandl (67), Baumeister (10) sowie Gabka (44) an. Damit wird nochmals die technische Durchführbarkeit der Methode der lympho-lymphatischen Anastomosierung unter Verwendung von Lymphgefäßinterponaten unterstrichen.

Mehrere Voraussetzungen sind für den Erfolg notwendig. Als Grundbedingung muß die äußerst subtile Operationstechnik genannt werden. Hierzu gehört einerseits die technische Ausstattung in Form von mikrochirurgischen Instrumenten, feinsten Fäden (10-0 bis 12-0) und Nadeln (50 µ) sowie einer variablen optischen Vergrößerung. Andererseits ist die sehr schonende Handhabung der zartwandigen Lymphgefäße zu erwähnen. Die "zugfreie Anastomosierungstechnik" ermöglichte eine Knüpfung der Nähte an der Lymphgefäßhinterwand, ohne das Gefäß umwenden zu müssen (s. 2.4.). Seitliche Zugspannungen, wie sie bei der üblichen Gefäßanastomosierung entstehen, traten dadurch nicht auf (6,10).

Auf die Verwendung von Gefäßklemmen zur Kompensation der Retraktionskräfte der Gefäßstümpfe nach Durchtrennung der Lymphbahn wurde wegen der Gefahr der Obliteration verzichtet. Baumeister erkannte in diesem operationstechnischen Hilfsmittel ein Risiko für den

Erfolg (10), während Mandl (67) und Gabka (44) teilweise ACLAND-Klemmen benutzten. Gabka berichtete dabei von Obliterationen der Gefäßbahn in den so behandelten Regionen. Die Retraktionskräfte der Gefäßstümpfe des Empfängertieres sollten vielmehr durch die Verwendung ausreichend langer Transplantate kompensiert werden. Dadurch werden Zugspannungen im Anastomosenbereich vermieden, die entscheidend für den Langzeiterfolg der Operation sein können. Diese Beobachtungen wurden schon von Russell bei der Anastomosierung von Femoral-Arterien und -Venen an Hasen gemacht (85). Die Bedeutung der zugfreien Lymphgefäß-Anastomosierung unterstreichen auch die Tierexperimente von Kaye, der für in dieser Technik gefertigte End-zu-End Anastomosen höhere Langzeitdurchgängigkeitsraten erreichte als mit der herkömmlichen Methode (62).

Eine Abhängigkeit zwischen der Durchgängigkeitsrate und der Länge der Lymphgefäßinterponate wurde bisher nicht beschrieben. Baumeister verwendete erfolgreich im Hundemodell bis zu 100 mm lange Transplantate (7), Mandl transplantierte Lymphgefäße zwischen 8 und 20 mm Länge mit einer Durchgängigkeitsrate von 100%, die bei der histologischen Aufarbeitung keine signifikanten Unterschiede zeigten (67). Die Ergebnisse, die in der vorliegenden Arbeit mit 3-5 mm langen Transplantaten gewonnen wurden, dürften somit wohl auch für längere Transplantatstrecken Geltung haben.

Die Vorteile der Verwendung von resorbierbarem Nahtmaterial wurden von Baumeister beschrieben (14). Die morphologische Begutachtung der Anastomosenbereiche ergab, daß bei beiden Nahtmaterialien eine anfängliche Fremdkörperreaktion vorlag. Diese ging jedoch bei resorbierbaren Fäden mit zunehmender zeitlicher Entfernung von der Operation fast gänzlich zurück, während sie bei nicht resorbierbaren Nähten persistierte.

Wegen der mit der hier angewandten Operationstechnik erzielten guten Langzeitergebnisse wurde auf einen

Gebrauch von Gewebeklebstoffen verzichtet. Jonsson benutzte Gewebekleber nach Inzision von kleinen Lymphgefäßen zur Verhinderung eines Gefäßwandkollapses (60), Karl anastomosierte Arterien und Venen an Ratten unter alleiniger Verwendung eines Fibrinklebers (61). Lymphovenöse End-zu-Seit Anastomosen zwischen Ductus thoracicus und Jugularvene wurden von Milingos mit nur 4 Einzelnähten und zusätzlichem Einsatz eines hochkonzentrierten Fibrinklebers gefertigt. Von 8 Anastomosen war bei der nach 15 Tagen durchgeführten Revisionsoperation eine durch einen Thrombus verschlossen und 7 durchgängig. Es ließen sich keine Undichtigkeiten oder Fisteln feststellen; Granulationsgewebe fehlte, nur eine geringe Narbengewebsentwicklung lag vor, wodurch länger anhaltende Lumenstenosierungen vermeidbar sein sollten. Hervorzuheben ist der sehr geringe Zeitaufwand für die Anastomosierung, der mit 15 Minuten angegeben wird. Insgesamt soll der Vorteil einer minimierten Gewebs- und Gefäßtraumatisierung geboten werden (69).

Günstige Bedingungen für das Gelingen der durchgeführten Transplantationen liegen im Charakter des Lymphgefäßsystems selbst. Dazu gehört einerseits die große Regenerationsfähigkeit der Zellen der Gefäßwände. Sogar ohne Anastomosennähte konnte 2 bis 3 Wochen nach Durchtrennung einer Lymphbahn und Annähern der beiden Gefäßenden eine spontane Anastomosenbildung beobachtet werden (30). Eine Reendothelisierung der Anastomosen ist bei Lymphgefäßen nach etwa zwei Wochen abgeschlossen, während dieser Vorgang bei Arterien 4 Wochen benötigt (44,88). Sehr vorteilhaft wirkt sich auch das Ernährungssystem der Lymphgefäßwand aus. Wegen ihrer Dünnwandigkeit kann die Versorgung der Intima mit Nährstoffen durch Diffusion erfolgen, bis die Adventitia Anschluß an die aus angrenzendem Granulationsgewebe vorwachsenden Kapillaren gefunden hat (67). Voraussetzung für diesen Ernährungsmodus ist ein relativ geringer Stoffwechsel. Im Gegensatz dazu steht die

dickere, differenziert aufgebaute Arterienwand, die nicht zuletzt wegen ihrer vielen glatten Muskelzellen einen höheren Bedarf hat. Sauerstoffmangel führt hier zum Untergang der Muskelfaserschichten in der Media, die auf eine Versorgung durch die Adventita angewiesen ist. Die Arterienintima dagegen wird durch das strömende Blut von innen her ernährt (55,91). Daher läßt sich eine Arterie als Interponat in einer mit Lymphe durchflossenen Gefäßbahn nicht erfolgreich verwenden.

Eine weitere günstige Bedingung für das Gelingen einer funktionierenden Anastomose ist durch das niedrige Gerinnungspotential der Lymphe gegeben, welches nur 20 bis 60% der Blutwerte beträgt (101,102). Dadurch wird die Gefahr einer Gefäßthrombosierung, die bei Arterien- und Venentransplantaten die häufigste Komplikation der Frühphase darstellt, vermindert. Vor starken Wanddilatationen der während der Umbauphasen statisch unvollkommenen Gefäße oder sogar Aneurismabildungen und Rupturen schützt die geringe Durchflußrate der Lymphe von 2 mg/kg KG/Stunde verbunden mit einem geringen intravasalen Druck (83).

Zur Verifizierung der Durchgängigkeit der Anastomosen und Transplantate wurden intraoperative Inspektion, Farbstoffdarstellung, Lymphographie und histologische Untersuchung angewendet. Die Aussagemöglichkeit der mikroskopischen Inspektion am Situs war ganz von der Ausbreitung des die Transplantate umgebenden Narbengewebes abhängig, der distale und proximale Füllungsstatus der Lymphbahn mußte in die Beurteilung miteinbezogen werden. Ein sicherer Durchgängigkeitsnachweis konnte mit der Patentblau-Injektion erbracht werden, welche durch ihre Farbintensität auch noch unter Narbengewebe sichtbar war. Die Lymphographie ließ sich ebenso einfach durchführen, wurde jedoch wegen der Möglichkeit einer Endothelirritation nicht in allen Fällen vollzogen (75). Bei der Injektion waren die

hohen Viskositätseigenschaften des öligen Kontrastmittels in den kleinlumigen Kathetern und Lymphgefäßen zu berücksichtigen. Dies erforderte eine langsame Injektionsgeschwindigkeit, da sonst die Gefahr einer Ruptur besonders im Anastomosenbereich bestanden hätte. Schon bei leichter Erhöhung des Injektionsdruckes zeigte sich eine Dehnung des Gefäßlumens. Die Nahtbereiche ließen je nach zeitlichem Abstand zur Erstopoperation eine Einschränkung der Elastizität erkennen. Leichte Stenosierungen scheinen aber wegen der physiologisch langsamen Durchflußrate keine funktionelle Bedeutung zu haben, d.h. für die Dauer ihres Bestehens keinen klinisch erkenntlichen Lymphstau zu verursachen. Die exakteste Aussage über die Beschaffenheit von Anastomosen und Transplantaten konnte schließlich durch die elektronenmikroskopischen Untersuchungen getroffen werden.

Allen Untersuchungsmethoden gemeinsam ist, daß sie nur eine qualitative Wertung beinhalten. Quantitative Messungen scheiterten an den kleinen Dimensionen im Rattenmodell, die auch geringe Durchflußvolumina im Lymphgefäßsystem miteinschließen (s. 3.1.2.).

Somit kann zusammenfassend festgestellt werden, daß basierend auf den physiologisch guten Voraussetzungen für Transplantationen im Lymphgefäßsystem der funktionelle Erfolg weitgehend von einer subtilen mikrochirurgischen Operationstechnik, die auch eine Minimierung der Narbenbildung durch geringe Gewebstraumatisierung miteinbezieht, abhängt. Die isogene Lymphgefäßtransplantation kann in der Hand des geübten Chirurgen zur Rekonstruktion von unterbrochenen Lymphbahnen als Methode der Wahl eingesetzt werden.

4.3. Die Lagerung von Ductus thoracicus-Transplantaten

Die günstigen Ergebnisse der isogenen Lymphgefäß-Transplantation, die auch schon von anderen Autoren beschrieben wurden (11,44,67), haben bereits zu einem klinischen Einsatz der Methode geführt (15,67). Meist handelt es sich um ein Armödem nach Mastektomie, axillärer Lymphknotenausräumung und anschließender Radiatio. Zwei bis drei Lymphkollektoren von 25-30 cm Länge werden am Oberschenkel freipräpariert, um dann in den Schulter-Arm-Bereich subcutan transplantiert zu werden. Die Operationsdauer kann dabei mehr als acht Stunden betragen, da sowohl die Präparation im Subcutangewebe des Oberschenkels als auch das Auffinden geeigneter Lymphanschlußbahnen im Ödemgebiet behutsames Vorgehen erfordert. Zwischen der Entnahme und Implantation der einzelnen Gefäßsegmente kann ein zeitliches Intervall entstehen. Während dieses kurzfristigen Zeitraumes sollte eine die Integrität der Transplantate bewahrende Lagerung erfolgen, damit der Operationserfolg nicht auf Grund von Transplantatschäden gefährdet wird.

Eine weitere Notwendigkeit einer Transplantatlagerung ergibt sich bei der Durchführung von allogenen Lymphgefäßtransplantationen, die das Einsatzspektrum dieser Therapie erheblich verbreitern würden. Im Tiermodell konnten sie bereits mit Erfolg vorgenommen werden (44). Einen besonderen Vorteil würde dabei die große Anzahl der für Transplantationen zur Verfügung stehenden Gefäßkollektoren bieten. Es entsteht jedoch nach einer Transplantatentnahme beim Spender ein mittel- bis langfristiger Zeitraum, bis die Gefäße in den Empfängerorganismus implantiert werden können. Auch hier wäre also eine adäquate Zwischenlagerung erforderlich, die eine zeitlich unabhängige Verfügbarkeit von Lymphgefäßtransplantaten ermöglichen würde.

Eine allgemeine Anforderung an die zu untersuchende Lagerungsmethode sollte darin bestehen, daß sie sich mit einfachen Mitteln durchführen läßt. Der Einsatz von technisch und vom Zeitaufwand her anspruchsvollen Apparaturen würde die Praktikabilität herabsetzen.

Mit dem Ziel einer Erweiterung und Vereinfachung der Anwendbarkeit von Lymphgefäßtransplantationen zur Therapie des lymphostatischen Ödems wurden Morphologie und Funktion von gelagerten Lymphgefäßtransplantaten untersucht.

4.3.1. Versuchsansatz

Voraussetzung für die experimentelle Erarbeitung von Aussagen über lagerungsspezifische Veränderungen an Transplantaten ist, daß außer den Lagerungsmodalitäten keine anderen Variablen vorliegen. Daher wurden alle Transplantationsversuche in einem Inzuchtstamm durchgeführt. Transplantationsimmunologische Beeinflussungen des Operationserfolges, die bei allogenen Transplantationen eine Rolle spielen, waren damit ausgeschlossen (13,18,44). Im Sinne von gut reproduzierbaren Versuchsbedingungen wurden als Aufbewahrungslösungen für die Gefäße Präparate verwendet, die nicht einer speziellen Zubereitung, z.B. in Form eines Kulturmediums, bedurften, sondern in identischer Zusammensetzung allgemein verfügbar sind und für deren Brauchbarkeit als Lagerungsmedium bereits andere positive Erfahrungen bestehen (1,71). Auch die Lagerungstemperaturen sind so gewählt, daß sie allerorten ohne erheblichen Aufwand konstant eingehalten werden können. Kompliziertere Behandlung der Lymphgefäßtransplantate, wie z.B. Lyophilisation bzw. Gefriertrocknung (3) oder ein stufenweises Tiefgefrierungsverfahren wären erst dann zum Einsatz gekommen, wenn die simpleren Lagerungsmethoden versagt

hätten. Dies erübrigte sich jedoch. Durch die Experimente der kurzfristigen Lagerung sollte zunächst geklärt werden, ob eine Lymphgefäßlagerung überhaupt möglich wäre und welche Lagerungsbedingung sich am besten eignete. Vergleichende Untersuchungen zur Lymphgefäßlagerung konnten in der Literatur nicht gefunden werden. In der Gruppe der mittelfristigen und langfristigen Lagerung wurde dann nur noch die von der Temperatur und vom Lagerungsmedium her optimale Modalität weiter untersucht. Dabei konnte davon ausgegangen werden, daß eine Beeinträchtigung des feingeweblichen Aufbaus der zarten Lymphgefäßwandschichten durch eine Lagerung auftreten würde. Die Frage, inwieweit der Erfolg einer Transplantation, d.h. die Funktionalität eines gelagerten Gefäßes, von der Lagerungsmodalität und Zeit abhängen würde, sollte mit dem Transplantationsmodell beantwortet werden.

4.3.2. Allgemeine Kriterien einer Transplantatlagerung

Eine Transplantatkonservierung, d.h. die Aufbewahrung von Transplantaten in dem Zeitraum zwischen Entnahme und Operation, hat zum Ziel, daß im Empfängerorganismus die Wiederaufnahme einer speziellen Funktion erreicht wird (97). Für die Erhaltung dieser Funktion sind verschiedene Grundbedingungen ausschlaggebend. Als bedeutsamster Faktor muß die Art des zu transplantierenden Gewebes genannt werden. Eine Unterscheidung von Organ- und Gewebetransplantaten ist notwendig. Die einzelnen Zellen eines Organtransplantates müssen während der Lagerung unbedingt überleben, da in diesem Fall die lebenserhaltende Funktion, die "viability", im Empfänger an die spezifische Stoffwechselleistung der Organzellen gebunden ist. Diese komplexen Stoffwechselvorgänge werden im Organismus physiologischerweise vor allem durch das dem Organ über einen besonderen

Gefäßanschluß zugeführte Blut unterhalten. Eine Ischämie, bzw. ein völliger Durchblutungsstop, wird je nach Organart nur eine definiert kurze Zeit toleriert und führt dann unweigerlich zu Schädigungen. Eine Verlängerung dieser Ischämie-Zeit ist möglich, wenn durch hypotherme Bedingungen die Stoffwechselvorgänge in den Zellen nur in reduziertem Maß ablaufen müssen und das Organ bei Lagerungsbeginn mit speziellen Konservierungslösungen perfundiert wird. Dieses Verfahren wird vor allem bei Nierentransplantationen praktiziert (76), es lassen sich damit Lagerungszeiten von über 24 Stunden erreichen (4,5). Eine Vielzahl von Perfusionslösungen wurde bereits erprobt, wovon die sogenannte "Collins-Lösung" eine besondere Verbreitung gefunden hat (27,28,54,56). Um den Energiebedarf der Zellen während einer Lagerung weiter decken zu können, behandelte man die Transplantate zusätzlich mit einer Adenosin-Triphosphat-MgCl₂-Lösung vor und erreichte damit günstigere Überlebensraten (46). Insgesamt ist hierbei zu beachten, daß der Gesamterfolg von allogenen Organtransplantationen natürlich vom Grad der Abstoßungsreaktion durch die genetische Differenz zwischen Spender und Empfänger bestimmt wird und nicht nur von der Vitalerhaltung der Organzellen durch eine optimale Lagerung abhängt. Aber die Bedingung dieser Zellvitalerhaltung führt dazu, daß Organtransplantate gegenüber Schädigungsmechanismen eine große Anfälligkeit besitzen und einer aufwendigen Lagerungsmethode bedürfen.

Neben dem hohen Anspruch von Organtransplantaten steht der von Gewebetransplantaten, die primär nur durch Diffusion ernährt werden. Ein direkter operativer Gefäßanschluß im Empfängerorganismus ist hier nicht notwendig. Die größere "Anspruchslosigkeit" von Gewebetransplantaten findet auch darin Ausdruck, daß man ihnen die Möglichkeit einer chemischen Anabiose während

einer Lagerung zuschreibt (66). Dieser Zustand, der eine Herabsetzung von metabolischen Prozessen und der Enzymaktivität des Gewebes bis hin zum fast völligen Stillstand aller biologischen Vorgänge beinhaltet, wurde durch die Wirkung von schwachen Formalinlösungen (0,25-1%) bei Temperaturen von 2°-4°C und einem konstanten pH-Wert von 7.2 - 7.4 erreicht. Die chemischen Reaktionen beruhen auf der Interaktion von Formalin mit verschiedenen Zellsubstanzen, wie Proteinen, Nucleoproteinen, Carbohydraten, Nucleinsäuren und Fetten, die zu einer Beeinflussung der zellulären Ultrastruktur führt (31). Auf diese Weise behandeltes Gewebe, wie Knochen, Knorpel, Haut und Gefäße, zeigte nach bis zu einjähriger Lagerung und stufenweiser Dekonservierung wieder Lebenszeichen. Ähnliche Beobachtungen wurden bei der Benutzung von mit Formaldehyd fixierten Gefäßtransplantaten schon 1908 von Guthrie gemacht (55).

Neben der chemischen Fixierung durch Formol stehen zur Konservierung von Gefäßen im wesentlichen die Methode der Dauertiefkühlung, der Gefriertrocknung oder Lyophilisation und der Aufbewahrung in Lösungen zur Verfügung.

Der Vorgang der Tiefkühlung kann auf verschiedene Weise ablaufen. Ein sehr schnelles Abkühlen von Gefäßen mit flüssigem Nitrogen auf Lagerungs-Temperaturen von -70°C hat den Vorteil, daß eine Ruptur der Zellen vermieden wird, weil sich dabei nur sehr kleine Eiskristalle bilden. Dieser Schaden kann beim langsamen Einfrieren durch große Kristallisationen auftreten (34,37). W.o. behandelte und über einen Zeitraum zwischen 7 und 72 Tagen gelagerte Arterien waren nach einer Beobachtungszeit von bis zu 127 Tagen funktionstüchtig. Nach einer Lagerung von Arterien in mit Raumluft oder Helium gefüllten Glaskolben bei -70°C konnten in anschließenden Gewebekulturversuchen keinerlei Zellvitalitätszeichen mehr festgestellt werden (53). Andere

Tiefkühlverfahren beinhalten die Benutzung eines Gewebekulturmediums mit 10%igem Dimethyl-Sulfoxid (DMSO), welche auf eine Temperatur von -60°C gebracht werden (3). Der Operationserfolg von so gelagerten Venen als Arterienersatz war etwa gleich groß wie mit frischen Transplantaten.

Dagegen verlangt die Technik der Gefriertrocknung, daß nach der Tiefgefrierung der Präparate zusätzlich alle Feuchtigkeitsanteile aus dem Gewebematerial sublimiert werden. Das ist möglich, indem man nach dem Einfrieren auf ca. -80°C in einer speziellen Trockenkammer ein Vakuum erzeugt und das Eis unter Überspringung des wässrigen Aggregatzustandes in den gasförmigen Zustand überführt. Die so gewonnenen wasserfreien Transplantate können jahrelang im Vakuum aufbewahrt werden. Will man ein Transplantat wieder verwenden, wird es zu Beginn der Operation aus dem Vakuum genommen und z.B. in eine 0,9%ige Kochsalzlösung bei Raumtemperatur gebracht. Der Rehydrationsvorgang dauert ca. eine halbe Stunde, das Gefäß läßt sich dann makroskopisch kaum von einem frischen unterscheiden und verhält sich elastisch. Die Handhabung des hydratisierten Gefäßes beim Anfertigen der Anastomosennähte scheint wegen einer mäßigen Rigidität sogar einfacher zu sein (23). Bei der Verwendung von gefriergetrockneten allogenen Venen oder Arterientransplantaten konnten immunologisch bedingte Reaktionen in den Transplantatbereichen, die sich normalerweise durch starke Lymphozyten-Infiltrationen zeigen, nur in minimalem Ausmaß beobachtet werden (89,90). Die funktionellen Resultate dieser Methode sollen ebenso gut sein wie mit frischen Transplantaten (1,9,68,93). Gewebekulturstudien, die sofort im Anschluß an die Rehydratation gemacht wurden, hatten zum Ergebnis, daß die lyophilisierten Gefäßsegmente grundsätzlich keine lebensfähigen Zellen mehr enthielten.

In dem Bestreben, einfachere Lagerungsmethoden zu finden, wurde Alkohol in reiner Form oder als 70%iger

Äthylalkohol bei Raumtemperatur zur Aufbewahrung von Arterientransplantaten verwendet. Nach einer Zeit zwischen 9 und 269 Tagen wurden die Segmente, die durch den Alkohol devitalisiert worden waren, mit 0,9%iger NaCl-Lösung gespült und danach homolog oder heterolog in eine Arterie transplantiert. Beide Versuche erwiesen sich als erfolgreich und zeigten in einem Beobachtungszeitraum von mehr als 6 Monaten gleich gute Ergebnisse wie vital gehaltene Präparate. Die heterologe Transplantation von in Alkohol gelagerten, devitalisierten Arterien vom Menschen auf den Hund hatte befriedigendere Resultate als die von in Ringer-Lösung und Spender-Serum bei niedrigen Temperaturen aufbewahrten Segmenten, die in Gewebekulturen Vitalitätszeichen hatten erkennen lassen (63).

Die Dauer der Lebensfähigkeit von in Nährlösungen gelagerten Arterien wurde auch in anderen Versuchsreihen herausgestellt. Allogene Transplantate, die in einer Kochsalzlösung mit 10%igem Spender-Serum bei +1° bis +4°C aufbewahrt worden waren, ließen sich nach einer 35- bis 40-tägigen Lagerungsdauer in Gewebekulturmedien noch als vital erkennen. Mit identisch behandelten Gefäßsegmenten durchgeführte Transplantationen waren funktionell erfolgreich. Längere Lagerungsperioden dagegen führten zu schlechteren Ergebnissen sowohl in den Gewebekulturen als auch bei den Transplantationen. Durch vergleichende Untersuchungen mit tiefgefrorenen und frischen Transplantaten konnte die Überlegenheit der obengenannten Lagerungskonditionen hervorgehoben werden. Im allogenen System sind demnach Abhängigkeiten zwischen dem Überleben von Arterientransplantatzellen und einem funktionellen Erfolg der Operation zu vermuten (53).

Ebenfalls mit dem Ziel der Entwicklung einer einfachen Lagerungsmethode für Gefäße wurde eine Ringer-Lactat-Lösung von +4°C als Medium für autogene Venentransplantate eingesetzt. Die Lagerungsdauer betrug 0, 1, 2,

3, 5, 8, 10, 12 und 14 Tage; die je 5 Venensegmente jeder Versuchsgruppe wurden danach in die Femoralarterie desselben Tieres reimplantiert, während ein kleiner Teil jedes Segmentes nach der Lagerung einer histologischen Untersuchung zugeführt wurde. Die Durchgängigkeit der transplantierten Venen wurde unmittelbar, nach einer, fünf und sechs Wochen durch Biopsie geprüft. Nach bis zu zweitägiger Lagerung ließ sich kein negativer Effekt auf die Funktion erkennen, die histologische Aufarbeitung der nur gelagerten Teilstücke zeigte keinen Unterschied zu einem frischen Gefäß. Die Durchgängigkeitsrate betrug auch nach 6 Wochen noch 100%. Zunehmende Lagerungsdauer hatte jedoch allmählich fortschreitende nekrotische Veränderungen, ödematöse Schwellung der Wandschichten und Strukturauflösung zur Folge. Dies drückte sich auch in den erniedrigten Durchgängigkeitsraten der transplantierten Segmente aus. Die Methode ist demnach nur für eine Lagerungszeit von bis zu 2 Tagen uneingeschränkt anwendbar (99).

4.3.3. Die Lagerung von Lymphgefäßtransplantaten

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß Lymphgefäßsegmente nach einer Lagerung in physiologischer Kochsalzlösung oder einer Ringer-Lösung mit zunehmender Lagerungsdauer einer fortschreitenden Beeinträchtigung ihrer ursprünglichen Struktur unterliegen. Dabei spielt auch die Lagerungstemperatur eine Rolle.

An den 21 zwischen 30 Minuten und 10 Stunden gelagerten Lymphgefäßen waren unter dem Operationsmikroskop äußerlich keine signifikanten Schäden erkennbar (Gruppe I). Es konnten weder ein Strukturverlust noch Wandper-

forationen, Gewebsverfärbungen oder ödematöse Aufquellungen der Gefäßwand beobachtet werden.

Nach acht- und dreißigtägiger Lagerungsdauer bot sich makroskopisch das gleiche Bild und damit kein gravierender Unterschied zu frischen Transplantaten.

Trotz dieser in der groben Übersicht bestehenden Integrität der Gefäße war zu erwarten, daß Veränderungen im feingeweblichen Aufbau der Transplantate durch lagerungsabhängige Schädigungsmechanismen auftreten würden. Mehr oder weniger ausgeprägte morphologische Umstrukturierungen durch eine Lagerung sind bisher bei allen Untersuchungen an Gefäßen beschrieben worden. Gefriertrocknung von Gewebe führt mit Sicherheit zum Zelltod, auch nach reiner Tiefgefrierung oder Alkohollagerung ließen sich keine Vitalitätszeichen mehr nachweisen (63,90). Einzig bei Anwendung von schwachen Formalinlösungen (66) und physiologischer Kochsalzlösung oder Ringer-Lösung scheint ein Überleben einzelner Zellen überhaupt möglich (53,63). Der Nachweis der Vitalität wurde dabei über Versuche mit Gewebekulturmедien geführt. Dabei ist zu beachten, daß die Bedingungen für Wiederaufnahme des Zellstoffwechsels in vitro von denen nach einer Transplantation in vivo sehr stark differieren. Eine endgültige Aussage über ein wirkliches Überleben eines Transplantates im Empfänger läßt sich damit nur sehr eingeschränkt machen. Durch die ultrastrukturellen Untersuchungen mit dem Elektronenmikroskop konnten die morphologischen Veränderungen der Lymphgefäßwand genauer beobachtet werden. Hierbei war festzustellen, daß die Lamina endothelialis, die nur wenige μ dicke Auskleidung des Gefäßlumens, immer als erste Zellschicht von Veränderungen betroffen wird und somit den empfindlichsten Teil der Gefäßwand darstellt. Die sich in Form einer Abhebung der Endothelzellen vollziehende Degeneration begann bereits langsam nach einer halbstündigen Lagerung, war nach 6 Stunden schon ausgeprägter und führte schließlich zu einer vollständi-

gen Ablösung des endothelialen Zellverbandes nach 10 Stunden. Nach 6-stündiger Lagerungsdauer setzten auch Auflockerungsvorgänge der subendothelialen Kollagenfaserschichten ein, während die peripheren Wandschichten weitgehend von Veränderungen verschont wurden. Eine achttägige Lagerung führte ebenfalls zu einer großflächigen Abtrennung des Endothels mit Zelllysis und Kernpyknose. Nach 30 Tagen waren nur noch Endothelzellfragmente vorhanden. Der periphere Wandaufbau blieb auch in diesen Fällen erhalten. Die Gesamtstruktur des gelagerten Gefäßes konnte somit gewahrt werden; eine mechanische Beanspruchung der Lymphgefäßwand, wie sie beim Anfertigen einer Anastomosennaht auftritt, scheint demnach möglich zu sein.

Vergleichbare Lagerungsuntersuchungen an Venen in Ringer-Lactat-Lösung bei 4°C zeigten ähnliche Veränderungen, die jedoch in anderer Zeitabfolge und ausgedehnter abliefen. Bis zu einer Lagerungszeit von 2 Tagen konnten bei den Venen keine morphologischen Schäden festgestellt werden. Danach jedoch begann ebenso eine Schwellung der Endothel- und zusätzlich der Mediazellen mit Zytoplasmaödem und Vakuolisierung, gefolgt von einer Ablösung der Basalmembran (s.o.). Eine Lagerung von 5 Tagen führte zu vermehrten Mediazellödem und degenerativen Veränderungen in den Zellkernen in Form von Pyknose und Karyorhexis, die Lamina interna und externa löste sich auf. Am achten Lagerungstag wiesen die meisten Zellen keinen Kern mehr auf, die glatten Muskelzellen der Media waren nekrotisch, Media und Adventitia hatten keinen Kontakt mehr zueinander. Vom 10. bis 14. Lagerungstag wurde die morphologische Gesamtstruktur der Vene nur noch von kernlosen, nekrotischen und zusammenhanglosen Zellresten gebildet (99).

In jedem Fall findet durch eine Lagerung ein Zelluntergang statt. Die Frage war daher, ob sich die Lymphgefäße noch als Transplantate verwenden lassen

würden. Die bis dahin durchgeführten histologischen Untersuchungen konnten nur Auskunft über den morphologischen Zustand eines Gefäßes nach einer Lagerung geben. Weitergehende Aussagen über die Funktion nach einer Transplantation waren damit jedoch nicht möglich.

Das Ziel der Transplantationsversuche bestand darin, die Auswirkungen der Lagerung auf Morphologie und Funktion der Lymphgefäßtransplantate zu untersuchen (Gruppe II). Andere Beeinflussungsparameter, wie z.B. eine Allogenicität der Transplantate, durften nicht vorliegen, die Transplantationen wurden nur im isogenen System durchgeführt. Um eine optimale Vergleichbarkeit zu erreichen, wurden die Transplantate wie bei den reinen Lagerungsversuchen mit 0,9% NaCl-Lösung behandelt.

Von den 10 Ductus thoracicus-Transplantaten, die vor der Transplantation einer kurzfristigen Lagerung von einer halben Stunde bis zu zehn Stunden in physiologischer Kochsalzlösung ausgesetzt waren, erwiesen sich alle als durchgängig. Die Revisionsoperationen wurden am 20. Tag nach Transplantation durchgeführt. Die Inspektion der Transplantate mit dem Operationsmikroskop ließ keine äußeren Schäden in Form von Nekrosen, Aneurismen oder Thrombosen erkennen. In der Operationsregion lag jedoch teilweise ein starkes Granulationsgewebe vor, wie es schon von den isogenen Transplantationen her bekannt war. Durch Farbstoffinjektion und Lymphographie konnte zwar die zu diesem Zeitpunkt unbeeinflusste Funktionalität der Transplantate nachgewiesen werden, eine genaue Aussage über Umbauvorgänge in der Transplantatwand war aber nur durch die elektronenmikroskopische Begutachtung möglich. Diese hatte zum Ergebnis, daß bei zunehmender Lagerungsdauer die bei +4°C gelagerten Transplantate weniger ausgeprägte Einbaureaktionen hervorgerufen hatten. Damit erscheint eine Kühlung für längere Lagerungszeiten vorteilhafter. Bei der Organisation der Transplantatwand

mußte allgemein eine Unterscheidung zwischen Reaktionen des Endothels, der subendothelialen und der peripheren Kollagenfaserschichten, die als Stützstruktur dienen, gemacht werden. Von den Lagerungsversuchen her war bekannt, daß das Endothel der Lymphgefäßsegmente am empfindlichsten von Veränderungen betroffen wurde, während die Anordnung der subendothelialen Kollagenfaserschichten erst zu einem späteren Zeitpunkt Alterationen aufwies. Die periphere Wandstruktur war scheinbar unbeeinflusst geblieben. 20 Tage nach der Transplantation zeigten alle Transplantate einen geschlossenen Epithelbelag, nur partiell bildete noch ein Fibrinüberzug die Auskleidung des Lumens.

Diese Beobachtungen haben Ähnlichkeit mit denen, die bei isogenen und allogenen Lymphgefäßtransplantationen gemacht wurden. Beide wiesen am 15. postoperativen Tag einen lückenlosen Endothelbelag auf (45). Beim isogenen Gefäßersatz mit frischen Transplantaten ließ sich das Endothel bereits am zweiten postoperativen Tag feststellen und blieb während der Folgezeit immer erhalten. Nach 8 bis 10 Tagen fanden hier nur mäßige Umbauvorgänge in den subendothelialen Kollagenfasern statt, die sich in einer Auflockerung der ursprünglich dichten Anordnung widerspiegeln. Dagegen trat bei den allogenen Transplantationen zwischen dem 8. und 10. Tag ein partieller Verlust des Endothels auf, welches zunächst durch Fibrinbeläge ersetzt wurde, am 15. Tag aber wieder vollständig nachweisbar war. Ein solcher phasenhafter Ablauf war auch für die eigenen Experimente zu erwarten und wurde an Hand der mittelfristig gelagerten Lymphgefäßtransplantate im einzelnen beobachtet. Alle 10 nach achttägiger Lagerung verwendeten Transplantate konnten im Empfängertier den Lymphabfluß aufrecht erhalten, obwohl während des postoperativen Untersuchungszeitraumes zwischen 2 und 40 Tagen verschiedene Umbauvorgänge in der Gefäßwand stattfanden. Wie bekannt hatten sich durch die Lagerung des Gefäßes

bereits die Endothelzellen großflächig abgehoben, die subendotheliale Schicht bot Zeichen der Auflockerung. 2 bzw. 4 Tage nach der Transplantation eines solchen Gefäßes fehlten die eigentlichen Endothelzellen völlig, eine Lumenauskleidung war aber trotzdem vollständig vorhanden. Sie wurde ersatzweise von Fibrinauflagerungen bzw. einem aufgelockerten Verband von kollagenen Fibrillen gebildet. Der Wiederaufbau der Intima begann nach einer Woche zunächst subendothelial mit der Bildung eines geordneten Kollagenfasergeflechts und setzte sich in der Endothelzellschicht fort. Dieser Vorgang war nach 30 bis 40 Tagen abgeschlossen, es ließ sich eine vollständige "Neointima" mit vereinzelter, glatter Muskulatur erkennen. Die Ausdehnung der Lagerungszeit auf acht Tage hatte demnach nicht zum Funktionsverlust des Transplantates geführt, sondern nur eine längere Reorganisationsdauer gefordert.

Diese Reorganisation war bei den mit 30 Tagen langfristig gelagerten Gefäßsegmenten, die vor der Operation nur noch fragmenthaft Endothelzellen aufgewiesen hatten, 30 Tage nach der Transplantation mit der Bildung eines glatten Endothelbelages erfolgreich abgeschlossen. Die peripheren Wandabschnitte boten bei allen Transplantaten kaum Zeichen der Veränderung.

Ein Charakteristikum dieser Umbauvorgänge liegt in der ständigen Auskleidung des Lumens mit Ersatzstrukturen, die die Aufrechterhaltung des Lymphabflusses gewährleisten, solange die eigentlichen Endothelzellen fehlen. Die Neuauskleidung der Transplantatlumina mit Endothelzellen scheint dabei vom Empfänger auszugehen. Diese Beobachtung wurde schon bei anderen Gefäßtransplantationen gemacht (63). Tierexperimentelle Untersuchungen von tiefgefroren gelagerten Arterientransplantaten zeigten, daß, nach anfänglichem Fehlen, neue Endothelzellen von den beiden Anastomosenregionen zur Transplantatmitte hin vorwuchsen (37). Diese Endothelzellproliferation konnte auch bei der Verwendung von gefriergetrockneten

allogenen Arterientransplantaten beobachtet werden (68). Ebenso führte bei Kaninchen die Transplantation von gefriergetrockneten homologen Venen als Arterienersatz oder als Patch in einer Arterie zur Entwicklung einer solchen neuen Intima. Auf den Patches bildete sie bereits nach 3 Wochen einen lückenlosen Belag (70). Dieser Vorgang darf damit auch für Lymphgefäße als wahrscheinlich angesehen werden.

Die Umbauvorgänge der tieferen Wandschichten ließen sich an einer zeitweisen Auflockerung der Kollagenfaserbündel erkennen, während in den peripheren Bezirken ein Auftreten von Makrophagen zu sehen war.

Während der gesamten Zeit dieser Organisationsvorgänge in der Transplantatwand wurde die Funktion des Lymphtransportes immer aufrecht erhalten. Spezifische, das Lymphgefäßsystem charakterisierende Bedingungen, bildeten die physiologische und morphologische Grundlage für diesen Erfolg:

Das Lymphgefäß besitzt einen einfach strukturierten, dünnen Wandaufbau. Besonders der Gehalt an Muskel-Fasern ist quantitativ wesentlich kleiner als der bei Arterien und auch Venen. Das hat einen geringeren Stoffwechsel zur Folge; die Ernährung des bradytrophen Gewebes der gesamten Wand kann durch Diffusion aus der Lymphe gedeckt werden, bis die Adventitia Anschluß an die Blutkapillaren der Umgebung gefunden hat. Die Arterie dagegen benötigt zur ausreichenden Versorgung ihrer dicken, höher differenzierten Wand eigene Organgefäße, die vasa vasorum (90,91). Nach Transplantation der Lymphgefäße konnten die Reorganisationsvorgänge von Seiten des Empfängers mit den Abbauvorgängen der durch Lagerung alterierten Zellen Schritt halten. Dies war besonders beim schnellen Aufbau eines neuen Endothels nach lagerungsbedingter Endothelzerstörung notwendig. Bei Arterientransplantationen überwiegen mehr die degenerativen Wandveränderungen, der anspruchsvollere Neuaufbau der Einzelschichten benötigt mehr Zeit.

Besonders der Endothelverlust stellt hierbei als Ursache für Thrombosen, sowohl bei gelagerten als auch bei ungelagerten Arterien, einen kritischen Punkt in der Frühphase nach der Transplantation dar (23,90). Bei den Lymphgefäßen wird diese Thrombosenbildung durch die rasche Endothelregeneration und durch ein niedriges Gerinnungspotential der Lymphe verhindert.

Einen weiteren Vorteil bietet der geringe intravasale Druck im Lymphgefäßsystem. Dadurch wurden Dilatationen, Aneurismen und Rupturen der Transplantatwand vermieden, obwohl sie durch die Lagerung und die nach Implantation ablaufenden Organisationsvorgänge in ihrer Struktur beeinträchtigt war. Die Druckbelastung hatte in der Phase der Auflockerung der Kollagenfaserstrukturen besondere Bedeutung. In die arterielle Strombahn transplantierte Gefäße werden in dieser Zeit durch den hohen arteriellen Druck stark gefährdet (96). Im Niederdrucksystem der Lymphgefäße liegen günstigere Bedingungen vor, die Durchflußrate beträgt nur 2 ml/kg/Stunde. Dadurch kommt den in den Anastomosenbereichen zeitweilig bestehenden Stenosierungen keine hämodynamische Bedeutung zu (83).

Als Gewebetransplantate sind die Lymphkollektoren nur sekundär vaskularisiert, ihre Funktionserhaltung in der Gefäßbahn steht nicht in Abhängigkeit zum Überleben der Transplantatzellen. Der Transport der Lymphflüssigkeit blieb auch bei den Transplantaten erhalten, die durch mittel- und langfristige Lagerung eindeutig eine Auflösung der Endothelzellen sowie Strukturveränderungen der subendothelialen Faserschichten erlitten hatten. Die in diesen Wandabschnitten mit großer Wahrscheinlichkeit nicht mehr vitalen Lymphgefäße konnten trotzdem ihre homostatische Funktion der Überbrückung eines Defektes im Gefäßverlauf erfüllen. Eine Notwendigkeit der Lebensfähigkeit des transplantierten Gewebes zum Gelingen der Transplantation besteht demnach nicht. Diese Beobachtung schließt sich den Erfahrungen mit durch Gefrier-

trocknung devitalisierten anderen Gefäßtransplantaten an (1): es wird sogar die Ansicht vertreten, daß Devitalisierung eine Bedingung für eine erfolgreiche Gefäßtransplantation ist (78). Während im endothelialen und subendothelialen Bereich der gelagerten Lymphgefäße somit umfangreiche Reparationsvorgänge ablaufen müssen, wird die Gefäßwand von der nach den verschiedenen Lagerungsmodalitäten weitgehend erhaltenen peripheren Wandstruktur stabilisiert und kann ihre Platzhalterfunktion ausüben.

Zusammenfassend scheint die Erklärung der vorliegenden Untersuchungen zur Transplantation von gelagerten Lymphgefäßsegmenten ein gesetzmäßiger Ablauf von im Gleichgewicht stehenden Ab- und Einbauvorgängen der durch eine Lagerung verschieden stark alterierten Gefäßwandanteile zu sein. Das Transplantat kann während der Umbauphase wegen der günstigen physiologischen Bedingungen im Lymphgefäßsystem, die durch einfachen Wandaufbau, Niederdrucksystem, geringes Gerinnungspotential und bradytrophes Gewebe gegeben sind, die Funktion des Transportes der Lymphflüssigkeit aufrecht erhalten. Es dient dem Empfängerorganismus als Leitstruktur für eigene Reparationsmechanismen.

Die Untersuchungen wurden mit dem Ziel durchgeführt, die Anwendungsmöglichkeiten der Lymphgefäßtransplantation als Therapie des Lymphödems durch Prüfung der Lagerungsfähigkeit von Lymphgefäßtransplantaten zu erweitern. Dazu dienten Segmente des abdominellen Ductus thoracicus von Inzuchtratten, die in einer Länge von 3-5 mm aus dem Gebiet zwischen Cysterna chyli und dem Zwerchfell entnommen wurden. Zur Konservierung dieser Lymphgefäße wurde als eine für die Klinik unproblematische Lagerungsmethode physiologische Kochsalzlösung von 4°C bzw. 20°C sowie "Ringer-Nährlösung" von 4°C untersucht. Die Lagerungsdauer wurde als kurzfristige Lagerung von einer halben bis zu zehn Stunden, als mittelfristige Lagerung von acht Tagen und als langfristige Lagerung von 30 Tagen festgesetzt. Ein Teil der so behandelten Gefäße wurde unmittelbar nach der Lagerung elektronenmikroskopisch untersucht, während der andere Teil zunächst isogen transplantiert und erst nach einer Revisionsoperation funktionell und histologisch begutachtet wurde.

Zur Ermittlung der Fähigkeit des Untersuchers, Lymphgefäße mit mikrochirurgischer, zugfreier Anastomosierungstechnik zu transplantieren, dienten als Kontrollgruppe zehn isogene Ductus thoracicus-Transplantationen im Inzuchtstamm. Alle Transplantate erwiesen sich nach einem mittleren Beobachtungszeitraum von 210,5 Tagen als durchgängig.

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von 35 gelagerten Lymphgefäßsegmenten zeigte sich, daß mit zunehmender Lagerungsdauer eine fortschreitende Zerstörung einzelner Wandschichten stattfand. Diese betraf vor allem eine Zellauflösung im endothelialen Bereich, während die peripheren Wandstrukturen erhalten blieben. Eine Lagerungstemperatur von +4°C erschien für längere

Lagerungszeiten günstiger als $+20^{\circ}\text{C}$, die Verwendung von physiologischer Kochsalzlösung war ohne Nachteil gegenüber der Ringer-Nährlösung. Von 23 nach Lagerung transplantierten Lymphgefäßkollektoren wurden alle zum Zeitpunkt der Revisionsoperation zwischen 2 und 40 Tagen als durchgängig beurteilt. Die kurzfristig gelagerten Transplantate, die nach 20 Tagen untersucht wurden, zeigten im Elektronenmikroskop einen weitgehend geschlossenen Endothelbelag. Kürzere Lagerungszeit und eine Temperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ bewahrten die subendothelialen Kollagenfasern vor Strukturauflockerungen. Die Phasenhaftigkeit der Umbauvorgänge in der Transplantatwand ließ sich mit den achttägig gelagerten Transplantaten, die auch sämtlich durchgängig waren, nachweisen. Die Revisionsoperationen zeigten hier, daß während der gesamten Regenerationsvorgänge eine Lumenauskleidung vorhanden war, die zunächst aus Ersatzstrukturen bestand, dann aber als Neointima aufgebaut wurde. Die ebenfalls durchgängigen 30 Tage gelagerten Gefäße ließen dieselbe Wandorganisation erkennen.

Somit scheint durch die aufgrund einer Lagerung alterierten Lymphgefäßtransplantate ein gesetzmäßiger Ablauf von Ab- und Einbauvorgängen induziert zu werden. Auf der einen Seite abgebaute Gewebsanteile der Transplantate werden auf der anderen Seite durch sich differenzierende, neue gefäßtypische morphologische Strukturen ersetzt. Der Empfängerorganismus benutzt das Transplantat als Leitschiene für Reparationsvorgänge, wobei zur Erhaltung der lymphleitenden Funktion zuerst eine Organisation der Lumenauskleidung erfolgt. Die besonderen physiologischen Bedingungen im Lymphgefäßsystem in Form von geringem intravasalen Druck, niedrigem Gerinnungspotential und bradytrophem Gewebe begünstigen diesen Funktionserhalt. Unter diesen Bedingungen konnte damit die Anwendbarkeit der Lymphgefäßtransplantat-Lagerung gezeigt werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADLER, H., Wense, G.:
Zur Technik der Konservierung von Arterien
Klin. Med. 8, 389-393 (1960)
2. ALLEN, L.:
Abdominal lymphovenous communications as species characteristics and anomalies.
In: Progress in Lymphology, ed. by VIAMONTE M., P.R. KOEHLER, M. WITTE, C. WITTE, Thieme, Stuttgart (1970)
3. BARNER, H.B., De Weese, J.A., Schenk, E.A.:
Fresh an frozen homologous venous grafts for arterial repair.
Angiology 17, 389 (1966)
4. BARRY, J.M., Liebermann, S., Wickre C., Lieberman, S., Fischer, S., Craig D.:
Human kidney preservation by intracellular electrolyte flush followed by cold storage for over 24 hours.
Transplantation 32/6, 485-487 (1981)
5. BELZER, F.O., Southard J.H.:
The future of kidney preservation.
Transplantation 30/3, 161-164 (1980)
6. BAUMEISTER, R.G., Seifert, J., Wiebecke, B.:
Homologous and autologous experimental lymph vessel transplantation: initial experience.
Int. J. Microsurg. 3/1, 19-24 (1981)
7. BAUMEISTER, R.G.:
Die Lymphgefäßtransplantation zur Therapie des lymphostatischen Ödems.
Med. Habil., München (1981)

8. BAUMEISTER, R.G., Seifert, J., Wiebecke, B:
Transplantation of lymphvessels on rats as well as a first therapeutic application on the experimental lymphedema of the dog.
Eur. Surg. Res. Suppl. 2, 7 (1980)

9. BAUMEISTER R.G., Seifert, J.:
Microsurgical lymphvessel transplantation for the treatment of lymphedema: experimental and first clinical experiences.
Lymphology 14, 90 (1981)

10. BAUMEISTER, R.G., Seifert, J., Hahn, D.:
Autotransplantation of lymphatic vessels.
Lancet II 17, 147 (1981)

11. BAUMEISTER, R.G, Seifert, J., Wiebecke, B., Hahn, D.:
Experimental basis and first application of clinical lymph vessel transplantation of secondary lymphedema.
World J. Surg. 5, 401 (1981)

12. BAUMEISTER, R.G., Seifert, J., Wiebecke, B., Krumbach, J.:
Lymph vessel transplantation for the treatment of experimental lymphedema in dogs.
Eur. Surg. Res. 13, 40 (1981)

13. BAUMEISTER, R.G., Seifert, J., Gabka, C.J., Liebich, H.:
Immunologisches Verhalten homologtransplantierter Lymphgefäße.
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. 82, 37 (1982)

14. BAUMEISTER, R.G., Seifert, J., Wiebecke, B.:
Untersuchungen zum Verhalten von resorbierbarem und nicht resorbierbarem Nahtmaterial bei der Lymphgefäßnaht.
Handchir. Mikrochir. Plast. Chir. 14/2, 87-91 (1982)

15. BAUMEISTER, R.G.:
Mikrochirurgie des Lymphgefäßsystems.
Chirurg 54/6, 374-378 (1983)
16. BAUMEISTER, R.G., Goldmann, U., Liebich, H.G., Seifert, J.:
Ultrastrukturelle Untersuchungen zum Lagerungsverhalten von Lymphgefäßtransplantaten.
Vortrag, 100. Chirurgenkongreß der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, Chirurgisches Forum, Berlin (1983)
17. BOLUND, S., Jacobson, B.H.:
Reestablishing of lymph drainage from the lower limb by Nielobowicz method. Five cases of lymphatic oedema treated by lymph node-venous anastomosis. (Dans)
Ugeskr. Laeg. 142/20, 1282-1285 (1980)
18. BRENDDEL, W.:
Transplantation und Immunologie.
Arch. Oto-rhino-laryngol. 196, 39 (1970)
19. CALNAN, J.S., Reis, N.D., Pflug, J.:
Attempts to create anastomoses between lymphatics and veins at peripheral sites.
Brit. J. Surg. 55, 385 (1968)
20. CASLEY-SMITH, J.R.:
Lymphatics and Lymph.
In: Microcirculation ed. by G. Kaley, B.M Attura, Univ. Park Press (1973)
21. CASLEY-SMITH J.R.:
A fine structural study of the removal of the effectiveness of benzo-pyrone treatment by the destruction of the macrophages by silicia.
Brit. J. exp. Pathol. 59, 116 (1978)

22. CHARLES, R.H.:
A system of treatment.
Latham and Churchill, London, Vol. 3 (1912)

23. CHOW, S.P., SO, Y.C., Chan, C.W.:
Experimental microarterial grafts: freeze-dried allografts
versus autografts.
Brit. J. Plast. Surg. 36, 345-347 (1983)

24. CLODIUS, L.:
Lymphedema.
Thieme, Stuttgart (1977)

25. CLODIUS, L., Piller, N.:
Zur konservativen Behandlung des postmastektomischen
Lymphödems.
Ther. Ggw. 11, 229 (1974)

26. COBETT:
Small vessel anastomoses.
Brit. J. Plast. Surg. 20, 16 (1967)

27. COLLINS, G.M., Shugarman, M.B., Terasaki, P.I.:
Kidney preservation for transportation.
Lancet 2, 1219 (1969)

28. COLLINS, G.M., Halasz, N.A.:
Forty eight hour ice storage of kidneys: Importance of
cation content.
Surgery 79, 432 (1976)

29. CUNNINGHAM, D.M., Olding, M., Daniel, R.K.:
Microsurgical techniques in experimental lymphedema of
the rabbit ear.
Surg. Gynec. Obstet. 147, 877 (1978)

30. DANESE, C., Bower, R., Howard, J.:
Experimental anastomoses of lymphatics.
Arch. Surg. 84, 6 (1962)
31. De CARVALHO, C.A.F.:
Formalin as a preservative for grafts (Port).
Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. Sao Paulo 37/2, 80-87
(1982)
32. DEGNI, M.:
New technique of lymphatic-venous anastomosis (buried
type) for the treatment of lymphedema.
Vasa 3, 479 (1974)
33. DEGNI, M.:
New technique of lymphatic-venous anastomosis for the
treatment of lymphedema.
J. Cardio-vaso. surg. (Turin) 19(6), 577 (1978)
34. DETERLING, R.A., Coleman, C.C., Parshley, M.:
A preliminary report on experimental studies of frozen
homologous aortic grafts.
New York State J. Med. 6, 19 (1950)
35. DICK, W.:
Über die Lymphgefäße des menschlichen Netzes.
Bruns' Beitr. Klin. Chir. 162, 296 (1935)
36. DRINKER, C.K., Field, M.E.:
The protein content of mammalian lymph and the relation
of lymph to tissue fluid.
Am. J. Physiol. 97, 32 (1931)
37. EASTCOTT, H.G., Hufnagel, C.A.:
The preservation of arterial grafts by freezing.
Surg. Forum, Saunders, Philadelphia, 269 (1950)

38. EDWARDS, J.M., Kinmouth, J.B.:
Lympho-venous shunt in man.
Brit. Med. J. 4, 579 (1969)
39. FÖLDI, M.:
Physiologie des Lymphgefäßsystems.
Angiologica 8, 212 (1971)
40. FÖLDI, M.:
Erkrankungen des Lymphsystems.
Witzstrock, Baden-Baden (1971)
41. FÖLDI, M.:
Sind Diuretika für die Behandlung eines Lymphödems
geeignet?
Herz Kreisl. 5, 429 (1973)
42. FÖLDI, M.:
Physiology and Pathophysiology of Lymph Flow.
In: Lymphedema, ed. L. Clodins, Thieme, Stuttgart (1977)
43. FÖLDI, M.:
Das Armlymphödem nach Brustkrebsoperation.
Fortschr. Med. 98, 672 (1980)
44. GABKA, J.C.:
Untersuchungen zur allogenen Transplantation von Lymph-
gefäßen bei Inzuchtratten.
Med. Diss., München (1983)
45. GABKA, J.C., Baumeister, R.G., Liebich, H.G., Brendel,
W.:
Allogene Lymphgefäßtransplantate in der Frühphase.
Handchirurgie 17, 47-50 (1985)

46. GARVIN, P.J., Carney, K., Jellinek, M., Niehoff, M., Castaneda, M., Codd, J.E.:
The effects of ATP-MgCl₂ and Dipyrnidole in cold storage preservation.
J. Surg. Research 34, 443-450 (1983)
47. GILBERT, A., O'Brien B.M., Vorrath, J.W., Sykes, P.J.:
Lymphatico-venous anastomoses by microvascular technique.
Brit. J. plast. Surg. 29, 355-360 (1976)
48. GILLIES, H.D.:
The lymphatic wick.
In: Discussion on the treatment of chronic oedema of the leg.
Proc. R. Soc. Med. 43, 1054 (1950)
49. GILLIES, H.D., Fraser F.R.:
Treatment of lymphoedema by plastic operation.
Br. Med. J. 1, 96 (1935)
50. GOLDSMITH, H.S., De Los Santos, R., Beattie, E.J. jr.:
Relief of chronic lymphedema by omental transposition.
Am. Surg. 166, 572 (1967)
51. GRAU, H.:
Vergleichende Darstellung des Lymphgefäßsystems der Säugetiere.
P. Parey, Berlin-Hamburg (1974)
52. GRENZMANN, M., Beltz, L.:
Die lymphovenösen Anastomosen.
Fortschr. Geb. Röntgenstr. 109, 564 (1968)

53. GROSS, R.E., Bill, A.H., Peirce, E.C.:
Methods for preservation and transplantation of arterial
grafts.
Surg. Gynec. Obstet. 88, 689-701 (1949)
54. GUTHINGER, W.P., Linke, C.A., Pranikoff, K., Fridd,
C.W.:
Comparison of hypertonic citrate and Collins C2 and C3
flushing solutions in canine cold storage kidney preserva-
tion.
Transplantation, 279 (May, 1978)
55. GUTHRIE, C.C.:
Structural changes and survival of cells in transplanted
blood vessels.
J.A.M.A. 50, 1035-1036 (1908)
56. HARDIE, I., Balderson, G., Hamlyn, L., McKay, D.,
Gordon, C.:
Extended ice storage of canine kidneys using hyperosmo-
lan collins solution.
Transplantation 23/3, 282-283 (1977)
57. HEBEL, R., Stromberg, M.W.:
Anatomy of the laboratory rat.
Williams & Wilkins Comp., Baltimore (1976)
58. JACOBSON, J.H.:
Experimental anastomoses of lymphatics.
Diskussionsbemerkung. Arch. Surg. 84, 6 (1962)
59. JACOBSON, J.H.:
The present and future of microsurgery.
Current problems in surgery (February 1971)

60. JONSSON, C.E., Shimizu, Y.:
Cannulation of small lymph vessels using a tissue glue.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 39/3, 283-285 (1979)
61. KARL, P., Tilgner, A., Heiner, H.:
A new adhesive technique for microvascular anastomosis:
A preliminary report.
Br. J. Plast. Surg. 34/1, 61-63 (1981)
62. KAYE, J., Smith, B., Acland, R.:
Experimental end-to-end-anastomosis of lymphatic trunks
in the canine hind limb.
Chir. plast. 5, 163 (1980)
63. KIMOTO, S., Sugie, S., Tsunoda, M.:
Experimental and clinical studies on arterial homo- and
hetero-grafts preserved in alkohol.
A.M.A. Arch. Surg. 69, 549-563 (1954)
64. KOESTLER, E.:
Die Behandlung des Lymphödems mit der Hyaluronidase-
Iontophorese.
Physiotherapie 30, 91 (1978)
65. LAINE, J.B., Howard, J.M.:
Experimental lymphatico-venous anastomosis.
Surg. Forum 14, 111 (1963)
66. LAVRISHCHEVA, G.I., Balaba, T.J., Torbenko, V.P., Ein-
horn, A.G.:
Transplantation of tissues preserved in formaldehyde
solutions.
Act. Chir. Plast. 23/1, 1-7 (1981)

67. MANDL, H.:
Experimentelle Untersuchungen zur mikrochirurgischen
Rekonstruktion von Lymphgefäßdefekten.
Z. Plast. Chir. 5, 70 (1981)

68. MARRANGONI, A.G., Cecchini, L.P.:
Homotransplantation of arterial segments preserved by the
freeze-drying method.
Arch. Surg. 134/6, 977-983 (1951)

69. MILINGOS, S., Tassopoulos, J., Vrachnos, P.:
Experimental remarks on the utilization of biological
tissue adhesives in lymphovenous anastomosis.
J. Cardiovasc. Surg. 25/2, 130-133 (1984)

70. MORIYAMA, M.:
Evaluation of the use of freeze dried homologous vein
graft in peripheral arterial reconstruction. (Japan.)
Fukoka Acta Med. 67/11, 442-446 (1976)

71. NANNEY, L.B., Newton, E.D., Franklin, J.D., Rees, R.S.,
Lynch, J.B.:
Venous endothelial changes after experimental cooling of
free flaps.
J. Surg. Res. 34/3, 271-278 (1983)

72. NIELUBOWICZ, J., Olszewski, W., Machowski, Z., Soko-
lowski, J.:
Surgical lymphovenous shunts in patients with secondary
lymphedema.
Brit. J. Surg. 55, 440 (1968)

73. O'BRIEN, B.M.:
Microvascular reconstructive surgery.
Churchill Livingstone, Edinburgh-London-New York (1977)

74. O'BRIEN, B.M., Chait, L.A., Hurwitz, P.J.:
Microlymphatic surgery.
Orthop. Clin. North Am. 8, 405 (1977)
75. O'BRIEN, B.M., Das, S.K., Franklin, J.D., Morrison, W.A.:
Effect of lymphangiography on lymphedema.
Plast. Reconstr. Surg. 68/6, 922-926 (1981)
76. OPELZ, G., Teraski, P.I.:
Advantage of cold storage over machine perfusion for preservation of cadaver kidneys.
Transplantation 33/1, 64-68 (1981)
77. PANDOLFO, O.E., Botti, E., Malchiodi, C.:
Anastomosis between lymphatic channels and veins by microsurgical technique.
Polliclinico. Sez. Chir. 83/1-2, 448-453 (1976)
78. PATE, J.W., Sawyer, P.N., Deterling, R.A., Blunt, J.W., Parshly, M.S.:
Results in the experimental use of freeze dried arterial grafts.
Amer. J. Surg. 86, 653 (1953)
79. PARTSCH, H., Mostbeck, A.:
Pathogene desphlebopathischen und lymphogenen Ödems.
Mnch. Med. Wschr. 122, 22 (1980)
80. PETROVSKY, B.V., Krylov, V.S., Stephanov, G.A., Milanow, N.O.:
Direct lymph-venous anastomosis using microsurgical technique in secondary lymphedema of the extremities.
(Russ.)
Sun-Klin. Khir 1, 4-8 (1978)

81. PUCKETT, C.L., Jakobs, G.R., Hurritz, J.S., Silver, D.:
Evaluation of lymphovenous anastomoses in obstructive
lymphedema.
Plastic and Reconstructive Surgery, 66/1, 116-120 (1980)
82. PUCKETT, C.L.:
Microlymphatic surgery for lymphedema.
Clin. Plast. Surg. 1011, 133-138 (1983)
83. REINHARDT, W.O.:
Rate of flow and cell count of rat thoracic duct lymph.
Proc. Soc. exp. Biol. 58, 123 (1945)
84. RÜTTIMANN, A.:
Lymphsystem.
In: Klinische Pathophysiologie, ed. by W. SIEGENTHALER,
Thieme, Stuttgart (1979)
85. RUSSELL, R.C., Nightingale, M.G., O'Brien, B.M.:
The effects of tension on microvascular anastomoses.
Aus.-Chir. Plast. 5/4, 223-233 (1980)
86. SEABER, A.V., Urbaniak, J.R., Hiramatsu, H.:
Experimental microlymphatic surgery.
In: Symposium on microsurgery, 325-347, The C.V. Mosby
Comp., St. Louis-Toronto-London (1979)
87. SEIFERT, J.:
Neue Wege und neue Hoffnung bei Erkrankungen des
Lymphgefäßsystems.
Fortschr. Med. 97, 2239 (1979)
88. SHAFIROFF, B.B., Nightingale, G., Baxter, T.J., O'Brien,
B.M.:
Lymphaticolymphatic anastomosis.
Ann. Plast. Surg. 3, 199 (1979)

89. STAUDACHER, M.:
Spätschicksal der transplantierten Vene.
Thoraxchirurgie 21, 371-377 (1973)
90. STAUDACHER, M.:
Die homologe Transplantation der gefriergetrockneten
Vene - ein experimenteller Beitrag zum Problem: Gefäß-
ersatz.
VASA 23, 1-22 (1974)
91. SZILAGYI, D.E., Elliot, J.P., Hageman, J.H., Smith,
R.F., Dall'Omo C.A.:
Biologic fate of autogenous vein implants as arterial
substitutes.
An. Surg. 178, 232-244 (1973)
92. THOMPSON, N.:
Surgical treatment of primary and secondary lymphedema
of the extremities by lymphatic transposition.
Proc. R. Soc. med. 38, 1026 (1965)
93. TICE, D.A., Zerbino, V.:
Clinical experience with preserved human allografts for
vascular reconstruction.
Surgery 72/2, 260-267 (1972)
94. TILNEY, N.L.:
Patterns of lymphatic drainage in the adult laboratory
rat.
J. Anat. (Lond.) 109, 369 (1971)
95. UHLSCHMID, G., Clodius, L.:
Eine neue Anwendung des frei transplantierten Omentums.
Chirurg 49, 714-718 (1978)

96. VOLLMAR, J.:
Rekonstruktive Chirurgie der Arterien.
Thieme, Stuttgart (1982)
97. WENZEL, M., Fischer J.H.:
Organkonservierung durch schweres Wasser.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 21, 83-89 (1983)
98. WYNN, S.A.:
Surgical approach to post mastectomy lymphoedematous
extremity.
Arch. Surg. 70, 418 (1955)
99. YAFFE, B., Cushin, B., Petro, J., Sharzer, L., Strauch,
B:
The effect of a simple preservation method on immediate
and late patency rates of autogenous microvenous grafts.
Plast. Reconstr. Surg. 72/4, 526-532 (1983)
100. YAMADA, Y.:
Studies on lymphatic venous anastomosis in lymphedema.
Nagoya J. Med. Sci. 32, 1 (1969)
101. YOFFREY, J.M., Courtice, F.C.:
Lymphatics, lymph and lymphoid tissue.
E. Arnold, London (1965)
102. YOFFREY, J.M., Courtice, F.C.:
Lymphatics, lymph and the lymphomyeloid complex.
Academic Press, London-New York (1970)
103. ZSCHIESCHE, K.W.:
Zur pathologischen Anatomie der Lymphgefäßinsuffizienz.
Nova Acta Leopoldina 166, J.A. Barth, Leipzig (1963)

DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut für Chirurgische Forschung der Universität München. Ganz herzlichen Dank möchte ich Herrn Professor Dr. Dr. Walter BRENDL als Leiter des Institutes aussprechen, der mir alle erdenkliche Unterstützung zukommen ließ.

Die Anfänge der Arbeit und damit die Grundkonzeption entstanden unter Professor Dr. Jürgen SEIFERT. Mein Dank gilt ihm vor allem für die Einführung in das Gebiet der experimentellen Medizin. Auch stellte er die Verbindung zur Chirurgischen Klinik der Universität und damit zum direkten Betreuer aller weiteren Untersuchungen, Herrn Professor Dr. Rüdiger BAUMEISTER her.

Herrn Professor Dr. BAUMEISTER danke ich nicht nur ganz besonders für die Lehre in der mikrochirurgischen Operationstechnik, sondern auch für seinen ständigen Rat und seine Hilfe in allen Fragen.

Die Anfertigung und Auswertung der elektronenmikroskopischen Bilder verdanke ich Herrn Professor Dr. Hans Georg LIEBICH vom Tieranatomischen Institut der Universität München. Er unterstützte mich in jeder Phase der Arbeit mit größtem Interesse.

Herrn Dr. Georg ENDERS, Frau Jutta KRUMBACH, Frau Bärbel SINKULA, Frau Annelore HAUFFE und all den anderen aus dem Institut für Chirurgische Forschung, die mir bei der Erstellung der Arbeit hilfreich zur Seite standen, sei an dieser Stelle gedankt.

LEBENS LAUF

Geburtstag	17. Juli 1956
Geburtsort	Köln
Eltern	Dr. med. Georg Goldmann, Arzt für Innere Krankheiten in Köln, Gertrud Goldmann, geb. Felix
Schulbildung	1962-1966 Katholische Grundschule Köln- Bocklemünd 1966-1975 Staatliches Apostelgymnasium zu Köln-Lindenthal 1975 Zeugnis der Reife (humanistischer Zweig)
Studium	1976-1979 Humanmedizin an der FU Berlin 1979-1983 Humanmedizin an der Ludwig- Maximilians-Universität München 1983 Approbation
Weiterbildung	1983/84 Assistenz in allgemeinmedizinischer Praxis 1984-1986 Nachwuchswissenschaftler der Ge- sellschaft für Strahlen- und Umwelt- forschung im Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München (Med. Klinik III, Direktor Prof. Dr. W. Wilmanns)
Wehrdienst	1986/1987 Stabsarzt an der Akademie des Sanitäts- und Gesundheitswesens der Bun- deswehr, Bereich Studien und Wissenschaft

